

THÈSE

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue le mercredi 14 février 1906, à 1 heure

Par **Achille LOUSTE**

Ancien interne des hôpitaux de Paris

BACTÉRIOSCOPIE ET CYTOSCOPIE DU SANG

ET DES LIQUIDES HÉMORRHAGIQUES

PAR L'HÉMOLYSE IMMÉDIATE

(Erythrocytolyse)

(Travail du Laboratoire de M. le Prof. Gaucher et de M. le D^r Brault)

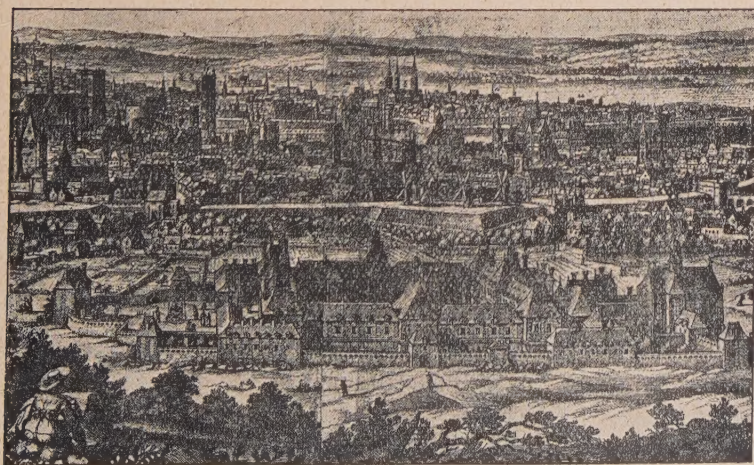
Président : M. GAUCHER, Professeur.

LANDOUZY, Professeur.

Juges : MM. { RECLUS, Professeur.

LEGUEU, Agrégé.

Le Candidat répondra aux questions qui lui seront faites sur les diverses parties de l'enseignement médical



L'HOSPITAL SAINT LOUIS EN 1620

PARIS

LIBRAIRIE MÉDICALE ET SCIENTIFIQUE

JULES ROUSSET

1, RUE CASIMIR-DELAVIGNE ET 12, RUE MONSIEUR-LE-PRINCE

1906

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Doyen Professeurs

Anatomie
Physiologie
Physique médicale.
Chimie organique et chimie minérale.....
Histoire naturelle médicale
Pathologie et thérapeutique générales
Pathologie médicale.....
Pathologie chirurgicale
Anatomie pathologique.....
Histologie
Opérations et appareils
Pharmacologie et matière médicale
Thérapeutique
Hygiène.....
Médecine légale.....
Histoire de la médecine et de la chirurgie
Pathologie expérimentale et comparée.....

Clinique médicale.. ..

Maladies des Enfants.....
Clinique de pathol. mentale et des malad. de l'encéphale.....
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques
Clinique des maladies du système nerveux.....

Clinique chirurgicale.....

Clinique ophtalmologique.....
Clinique des maladies des voies urinaires.....
Clinique d'accouchements.....
Clinique gynécologique.....
Clinique chirurgicale infantile.....

M. DEBOVE.
MM
POIRIER.
CH. RICHT.
GARIEL.
GAUTIER.
BLANCHARD
BOUCHARD
HUTINEL
BRISSAUD
LANNELONGUE.
CORNIL.
MATHIAS DUVAL
RECLUS.
POUCHET
GILBERT
CHANTEMESSE
BROUARDEL.
DEJERINE.
ROGER.
HAYEM.
DIEULAFOY.
DEBOVE
LANDOUZY.
GRANCHER
JOFFROY.
GAUCHER
RAYMOND.
LE DENTU
TERRIER
BERGER.

DE LAPERSONNE
GUYON.
PINARD.
BUDIN
POZZI.
KIRMISSON

Agrégés en exercice.

MM
AUVRAY
BALTHAZARD.
BRANCA
BEZANÇON.
BRINDEAU
BROCA André.
CARNOT.
CLAUDE.
CUNEO.
DEMEKLIN.
DEGREZ.

MM
DUPRE
DUVAL.
FAURE.
GOSSET.
GOUGET.
GUIART.
JEANSELME.
LABBE.
LANGLOIS.
LAUNOIS.

MM
LEGRY.
LEGUEU.
LEPAGE.
MACAIGNE.
MAILLARD.
MARION.
MAUCLAIRE.
MERY.
MORESTIN.
POTOCKI.

MM
PROUST.
RENON.
RICHAUD
RIEFFEL (chef des
Travaux anatomiques.
TEISSIER.
THIROLOIX
VAQUEZ.
WALLICH.

Par délibération en date du 8 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MES MAÎTRES DANS LES HÔPITAUX

MM. les docteurs BRAULT, *internat* 1903 ;
 HIRTZ, *internat* 1902 ;
 L. RÉNON, *internat* 1902 ;
 MICHAUX, *internat* 1901 ;
 LAMY, *internat provisoire* 1900 ;
 LE GENDRE, *internat provisoire* 1900 ;
 SEVESTRE, *externat* 1897 ;
 LERMOYEZ, *externat* 1896 ;
 OULMONT, *stage et externat* 1895 ;

MM. les docteurs HUDELO, QUEYRAT,
 MARION, BEZANÇON, Pierre DELBET, de
 BEURMANN, MORESTIN.

A MES MAÎTRES DANS LES LABORATOIRES

MM. les docteurs BRAULT, *Faculté de Médecine*
 1903, 1904, 1905 ;
 GOMBAULT, *Faculté de Médecine* 1902 ;
 ROUX, *Institut Pasteur* 1901 ;
 A. PETTIT, *Muséum d'Histoire naturelle, La-*
boratoire de M. le professeur Filhol 1902,
Laboratoire de M. le professeur Perrier, 1903.

A MON MAÎTRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

M. LE PROFESSEUR GAUCHER
(Externat 1898. Internat 1904)

A LA MÉMOIRE DE MES MAÎTRES

M. LE DOCTEUR POLAILLON

(Externat 1895)

M. LE DOCTEUR BRUN

(Internat 1901)



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153315_0087

INTRODUCTION

Parmi les méthodes de recherches dont le laboratoire a enrichi la clinique, les unes, comme la chimie, la bactériologie, exigent des connaissances et une orientation de travaux qui les laissent l'apanage de quelques privilégiés ; les autres, nées de ces premières, sont d'une application plus simple, plus pratique, restent à la portée de tout médecin instruit et sont ses auxiliaires quotidiennes ; tels sont l'examen direct bactériologique, le séro-diagnostic, le cyto-diagnostic.

C'est dans ce second ordre d'idées que nous avons cherché à appliquer d'une façon spéciale la destruction des globules rouges du sang, pour obtenir une concentration beaucoup plus grande des autres éléments normaux ou anormaux.

Ce résultat, nous avons pensé l'obtenir aussi bien pour les liquides hémorrhagiques que pour le sang.

Le point de départ de ces recherches semble venir naturellement comme suite aux travaux si nombreux faits sur l'hémolyse pendant ces dernières années. Mais alors que d'habitude on regarde les conditions qui donnent le commencement d'altération du globule rouge, nous voulions obtenir la destruction totale et immédiate de ces globules rouges.

Jusqu'à ce jour, on désigne indistinctement sous le nom d'hémolyse deux phénomènes distincts, connexes quelquefois, mais nullement nécessaires : a) *la dissolution de l'hémoglobine* ; b) *la destruction du stroma globulaire*.

Dans leurs travaux sur l'étude de la résistance globulaire, les différents auteurs ont vu ces deux phénomènes successifs. Mais presque tous conservent un même terme unique qui continue la confusion.

Il suffit, en effet, de mettre du sang en présence d'eau distillée dans un tube pour constater la dissolution de l'hémoglobine dans le liquide, et le dépôt formé au fond du tube par les globules privés de leur matière colorante.

Si l'on examine au microscope ce dépôt, on voit les globules rouges représentés par des corpuscules arrondis, transparents, dont le contour est marqué par une ligne grise.

Ce phénomène est encore plus sensible lorsqu'au lieu de sang d'homme on fait l'expérience avec du sang d'oiseau, qui contient des globules nucléés.

Mais si l'on ajoute à l'eau quelques gouttes d'urée, de chlorure d'ammonium, le dépôt disparaît ; et sous le champ du microscope on assiste à la destruction du stroma globulaire.

Dans le premier cas, il y avait hémolyse au sens propre du mot, et, dans le second cas, globulolyse.

C'est l'altération du globule rouge aboutissant à la globulolyse que nous avons cherché à obtenir sans altération des globules blancs.

Il était indispensable de préciser ce résultat que nous proposons d'appeler hémolyse immédiate, ou mieux encore *érythrocytolyse*, ce qui le définit exactement.

Ainsi débarrassé de la plus grande partie des éléments constitutifs du sang, il est plus facile, en évitant la coagulation, d'obtenir une concentration qui permettra les recherches sur lames, correspondant à des volumes de sang beaucoup plus considérables qu'on ne peut le faire par aucun procédé.

Ce n'est pas une étude nouvelle sur l'hémolyse que nous apportons, mais une *méthode de dia-*

gnostic ayant pour point de départ, avant tout, la dissolution des globules rouges.

Dans un mémoire antérieur présenté au concours des prix de l'Internat, nous proposons de nommer ce phénomène ERYTHROCYTOLYSE, terme très exact étymologiquement. Nous l'employons aussi dans ce travail ; mais pour éviter l'emploi de ce mot nouveau, nous nous servons aussi volontiers, après l'avoir expliqué, du terme d' « HÉMOLYSE IMMÉDIATE ».

DIVISION

Nous ferons d'abord une exposition brève des inconvénients qui résultent du nombre considérable des globules rouges lorsqu'on fait un examen direct du sang.

Nous rappellerons ensuite les différentes méthodes qui ont été appliquées et permettent d'une façon détournée de compléter dans une certaine mesure cet examen. Toutes d'ailleurs s'appliquent exclusivement à des recherches bactériologiques.

Dans un troisième chapitre, nous étudierons l'érythrocytolyse et les conditions dans lesquelles on l'obtient.

Nous consacrons un chapitre spécial à la technique qui nous a semblé préférable.

Enfin, dans un dernier chapitre, nous exposerons les résultats obtenus, qui permettent de considérer l'hémolyse immédiate ou érythrocytolyse

comme un procédé utile de diagnostic et quelquefois de pronostic.

Nous verrons d'ailleurs qu'elle ne fait pas double emploi avec les méthodes antérieures, puisqu'elle peut s'appliquer non seulement aux recherches bactériologiques, mais également à examens cytologiques.

CHAPITRE I

Les inconvénients de la présence en nombre considérable des globules rouges dans les examens de sang et de liquide hémorrhagique.

Lorsque l'on pratique un examen de sang, après avoir étudié les caractères macroscopiques indispensables, on procède à l'examen sur lame.

Qué l'on fasse une étude en chambre humide ou à sec, on est frappé du nombre considérable des globules rouges qui occupent à peu près tout le champ du microscope.

Cette étude est indispensable pour ces éléments eux-mêmes, mais leur nombre devient une gêne. En effet, la numération et l'examen qualificatif et proportionnel des globules blancs, qui complète la séméiotique en révélant certains symptômes qui par leur délicatesse échappent à l'examen clinique, reposent sur des chiffres d'éléments très restreints.

Mais cet inconvénient est bien plus grand lorsqu'il s'agit de rechercher des éléments encore plus rares, tels que des globules blancs anormaux, des granulations pigmentaires, des cellules cancéreuses, des parasites ou des microbes.

Il faut alors examiner un nombre considérable de préparations qui représentent encore un volume de sang excessivement restreint et ne donnent habituellement aucun résultat.

C'est alors que l'on complète cet examen direct par des moyens détournés, ensemencements, inoculations, méthodes très scientifiques mais toujours longues, délicates et quelquefois infidèles.

Cependant les faits d'observation clinique témoignent bien du passage dans le sang de ces éléments anormaux, microbes ou cellules cancéreuses.

Dans le cours des maladies infectieuses, les complications, les localisations successives, les septicémies primitives ou terminales sont une preuve de l'existence ou du passage dans le sang des éléments microbiens et cependant les examens directs sur lames qui ont été positifs peuvent se compter.

Dans les observations de tuberculose miliaire aiguë rapportés par Weichselbaum, par Meisels et Lustig, et qui sont au nombre de onze, deux

fois seulement le bacille de Koch a été retrouvé pendant la vie.

Dans ces observations, Weichselbaum faisait une prise de sang assez importante à l'aide de ventouses scarifiées. Veigert l'a constaté sept fois dans des cas de tuberculose aiguë.

Mais dans des cas où l'on n'avait pu constater son existence dans le sang pendant la vie, on le retrouvait dans l'endocarde et les vaisseaux placentaires. (Weichselbaum) dans le sang du cœur (Meisels, Vaquez) dans le sang du cœur et dans les parois), dans les veines phlébétiques (Chantemesse et Widal). Mugg le trouve dans les veines du poumon, Hanau le rencontre trois fois sur treize cas dans les veines pulmonaires. On le constate aussi dans des endocardites. A part ces faits positifs *post mortem*, l'expérimentation avait confirmé son existence dans le sang. Toussaint, Villemin, Baumgarten avaient pu reproduire des tuberculoses expérimentales en inoculant des animaux avec du sang de sujets atteints de granulie.

Rutimeyer le recherchait avec succès dans le sang de la rate obtenu par ponctions, et proposait même ce procédé comme moyen de diagnostic de la granulie.

En résumé, dans la tuberculose miliaire il

existe donc toujours dans le sang, mais sa constatation durant la vie n'a été faite qu'exceptionnellement. Dans les expériences faites pour retrouver le bacille tuberculeux dans le sang, M. Bergeron a vérifié l'hypothèse antérieure de Küss et montré que l'infection sanguine peut n'être qu'« éphémère et minime ».

Récemment, M. Jousset, en se servant d'une méthode ingénieuse dont nous aurons l'occasion de reparler, retrouvait plus facilement le bacille de Koch pendant la vie et à la suite de ses observations, il écrivait :

« Ainsi donc, ce qui s'est passé pour les autres espèces microbiennes se réalise pour le bacille tuberculeux, la généralité des septicémies s'affirme, en même temps que se perfectionnent les techniques, et à côté du streptocoque, du staphylocoque, du pneumocoque, communément retrouvés dans le sang, il faut ranger le bacille de Koch. »

Nous pensons absolument comme lui, en ajoutant toutefois qu'au lieu d'employer des méthodes longues et difficiles, on pourra obtenir le même résultat avec un examen presque direct.

Dans la fièvre typhoïde, les faits certains de bacille d'Eberth dans le sang ne sont pas moins rares. Ettlinger n'a trouvé qu'une seule fois sur

dix cas le bacille d'Eberth. A l'exception de Kohn, tous les autres expérimentateurs ont échoué.

Chez le vivant, on le constate facilement dans le sang de la rate, on le retrouve dans les foyers de métastases secondaires. Neuhaus l'a décelé dans les taches rosées lenticulaires.

Le pneumocoque, le staphylocoque, le streptocoque, ont été plus souvent rencontrés dans le sang, mais les examens directs positifs ont toujours été faits *in extremis*, quelquefois même après la mort.

Les parasites du sang sont plus faciles à retrouver, mais encore à une période tardive dans l'infection par les trypanosomes, ou dans l'infection charbonneuse, ou encore dans une période de crises, comme dans l'infection palustre, la filaire du sang.

En somme, dans les infections bactériennes ou parasitaires, l'examen direct du sang sur lame n'a donné de résultat positif que dans des cas très rares, isolés et toujours à une période tardive où le diagnostic clinique se suffit à lui-même.

Les considérations que nous venons de faire à propos des infections bactériennes ou parasitaires

acquièrent une importance beaucoup plus grande lorsqu'il s'agit de tumeurs malignes.

Les microbes ont été décelés dans le sang, alors que les cellules cancéreuses ne le sont pas encore, et les quelques faits que nous rapporterons plus loin sont très instructifs bien qu'insuffisants, étant donné le petit nombre qu'il nous a été donné d'observer.

Les tumeurs malignes, en effet, envahissent très facilement le système sanguin. En clinique, on attache beaucoup d'importance à l'extension de voisinage et à l'envahissement lymphatique. Mais l'histologie pathologique nous montre avec quelle facilité le système veineux est envahi bien avant que nous puissions le constater.

M. Brault a montré que le système veineux périganglionnaire est une voie commune, qui explique les métastases anormales des épithéliomas. Le même auteur écrit : « En suivant avec attention le développement des cancroïdes nés à la surface de la peau, du col utérin, de la langue, on peut constater la fréquence de l'*envahissement des capillaires et des veines* par les cellules cancéreuses néoformées. C'est une remarque qui s'étend, on peut le dire, à tous les épithéliomas dans quelque endroit du corps qu'on les observe. Il n'est donc pas nécessaire d'attendre l'envahis-

sement des ganglions pour affirmer qu'une tumeur est ou non en voie de généralisation. Les ganglions peuvent être inappréciables et la tumeur est déjà disséminée dans l'économie par la voie veineuse. »

La généralisation par la voie artérielle, plus difficile à saisir que la voie veineuse se réalise fréquemment.

Les faits que nous venons de rappeler au sujet des épithéliomas s'appliquent aussi aux sarcomes. Et si les tumeurs sarcomateuses restent primitivement localisées et sans envahissement lymphatique, ils empruntent beaucoup plus fréquemment la voie veineuse en cas de généralisation. Ce qui se comprend facilement en se rappelant la disposition et l'importance des vaisseaux dans la genèse de ces tumeurs.

A côté de ces faits cliniques et histologiques indiscutables, la constatation dans le sang de cellules cancéreuses n'existe pas. Andral, Rokitansky, Virchow ont signalé leur existence. Simon et Nepveu, Hanot et Gilbert les observèrent aussi, mais presque toutes ces observations furent faites *post mortem*.

Ce que nous connaissons de l'existence et de la généralisation des tumeurs permet de prévoir l'importance de la constatation des cellules cancé-

reuses dans le sang pour le diagnostic d'une tumeur difficile à explorer ou pour le pronostic d'une tumeur reconnue.

Nous avons déjà indiqué, dans une note antérieure, en collaboration avec M. Lœper, des observations confirmant cette hypothèse (1).

Ce que nous venons de rappeler à propos des examens directs du sang lui-même s'applique naturellement à tout liquide fortement hémorrhagique, dans lequel les globules rouges, soit par leur nombre, soit par leurs altérations, peuvent devenir un inconvénient pour l'examen microscopique.

Nous devons cependant établir immédiatement une distinction, car les liquides hémorrhagiques sont mélangés à d'autres liquides organiques, la coagulation du sang est difficilement évitable et ces faits changent beaucoup les conditions. Mais si le liquide est très sanglant, s'il est fraîchement examiné, on est en droit d'espérer des résultats satisfaisants et très importants.

Dans les hémoptysies, par exemple, qui apparaissent comme un des premiers symptômes de la tuberculose pulmonaire, il est nécessaire d'attendre la fin de ce symptôme, afin de pouvoir faire

(1) C.-R. Société Biologie, 30 janv. 1904. — *Recherche des cellules néoplastiques dans le sang.* — *Nécocythémie.*

la recherche des bacilles avec quelque chance de succès. Et cela uniquement parce que le sang est en quantité *trop considérable*, et le nombre de bacilles trop rare.

Dans les hématuries très sanglantes, le même inconvénient se retrouve. Mais ici, si l'on n'est pas gêné par la tumeur, on est en plus gêné par les qualités chimiques du liquide qui altérera plus ou moins les hématies. A côté de l'urée, en effet, le taux des chlorures de l'urine modifie très rapidement les globules sanguins. Sabrazès et Fauquet ont montré que l'urine des individus soumis au régime lacté laquait le sang immédiatement. Mais, dans ces conditions encore, très souvent au début, il persiste des stromas globulaires qu'il est facile de faire disparaître.

Dans les épanchements hémorrhagiques occupant les sérums, il se produit quelquefois spontanément un certain degré d'hémolyse, mais sans destruction du stroma.

Bard (de Genève) à même voulu faire de cette particularité un moyen de diagnostic. « Les épanchements de la plèvre et du poumon d'origine cancéreux dit-il, possèdent une action hémolytique sur les globules rouges du facteur. Cette action hémolytique fait défaut dans les épanchements d'origines infectieuses. »

Sans chercher à infirmer cette loi peut-être trop absolue, il est certain que la constatation de cellules cancéreuses dans le liquide hémorrhagique est beaucoup plus importante, et que si l'on obtient non pas une dissolution d'hémoglobine, mais une destruction totale des globules rouges, elle sera facilitée.

La présence des globules rouges est donc toujours une gêne considérable pour les recherches bactériologiques et cytologiques, dans le sang et les liquides hémorrhagiques.

Nous allons dans le chapitre suivant examiner les moyens que nous connaissons et qui permettent de les négliger, mais il faut reconnaître que tous ne visent que les recherches bactériologiques.

CHAPITRE II

Les méthodes qui permettent de compléter l'examen du sang.

Les méthodes du laboratoire, n'ont pu jusqu'ici rendre des services utiles que dans le diagnostic de quelques maladies infectieuses. Et bien entendu, en dehors des modifications de l'équilibre leucocytaire, elles ont porté sur la recherche directe des microbes pathogènes, leur culture, les inoculations ou leurs réactions biologiques. Nous sommes obligé de les rappeler pour préciser leur rôle et voir qu'elles ne font pas double emploi avec l'érythrocytolyse qui n'a pour but en réalité que d'étendre le champ des examens directs. On peut suivre de cette façon les phases successives par où sont passées les idées médicales et se rendre compte que les travaux multipliés aboutissent à la simplification des recherches.

MÉTHODE DES CULTURES

Les ensemencements de sang ont pendant longtemps donné des résultats très secondaires. La quantité de sang recueilli étant relativement trop faible par rapport à la masse sanguine totale. Et c'est lorsque les examens portèrent sur une quantité assez considérable que l'on obtint des résultats positifs. C'est cette même idée que nous avons voulu réaliser pour l'examen direct. Courmont, Bousquet, Lutier, Lemierre, Bezançon et Griffon, ont aussi presque constamment retrouvé le bacille d'Eberth dans le sang des typhiques. On peut aussi obtenir des résultats dans les pneumococcies et la tuberculose miliaire.

Mais il faut reconnaître que ce procédé presque parfait au point de vue scientifique l'est moins en pratique. Il nécessite des connaissances spéciales et une très grande habitude des travaux de microbiologie. Il est nécessaire d'employer des milieux de cultures abondants (300 à 500 centimètres cubes de bouillon), d'ensemencer plusieurs ballons car l'infection secondaire est très fréquente. Ces larges ensemencements ont pu être faits en série pour le bacille d'Eberth, mais pour les autres infections, cette méthode très scientifique est trop délicate et n'a pas été poursuivie.

INOCULATION AUX ANIMAUX

L'inoculation à une espèce animale sensible reste aussi toujours une méthode excellente. Elle permet dans certains cas d'établir un diagnostic que ni l'examen direct ni les cultures n'avaient permis d'affirmer. Comme pronostic enfin, c'est la seule qui permette d'apprécier la virulence de l'agent pathogène.

Mais, à part les infections pneumococquiques qui donnent un diagnostic rapide après inoculation à la souris, il faut dans tous les autres cas laisser s'écouler un temps assez long (tuberculose chez le cobaye, syphilis chez certains singes).

Malgré les renseignements importants donnés par les cultures et les inoculations, il arrive que ces procédés peuvent rester négatifs, même quand ils sont faits dans les meilleures conditions. Aussi a-t-on pensé les compléter par des réactions biologiques.

Parmi celles-ci nous signalerons seulement les réactions agglutinatives.

SÉRO-DIAGNOSTIC

Le séro-diagnostic utilisé dans le laboratoire pour différencier des espèces microbiennes voisines, et étudier leurs propriétés biologiques est resté d'une application très limitée.

Le séro-diagnostic de la fièvre typhoïde est le seul qui se soit généralisé à cause de ses résultats immédiats et pratiques. Cependant il n'est pas toujours constant. Et les récentes communications de M. Netter sur les affections paratyphiques ouvrent de nouveau les discussions. Il faut en outre posséder des cultures fraîches et parfaitement pures, non seulement du bacille d'Eberth, mais des espèces microbiennes paratyphiques. Et le séro-diagnostic si simple à son origine pourrait bien devenir une méthode de laboratoire abordable pour les seuls bactériologistes.

Nous devons citer aussi pour mémoire le séro-diagnostic du pneumocoque, du choléra et de la tuberculose ; mais pour constater qu'ils sont restés plutôt des recherches scientifiques et n'ont jamais acquis droit de cité dans la clinique.

Après avoir demandé à ces méthodes détour-

nées (cultures, inoculations, séro-diagnostic), les renseignements que l'examen direct sur lame ne pouvait donner, on devait revenir à cette dernière méthode.

L'examen direct du sang sur lame, nous l'avons vu est trop limité. Il suffirait de pouvoir étendre ces recherches directes en augmentant la quantité du sang à examiner.

Mais alors on se heurte à deux inconvénients : l'examen est trop long à cause du volume du sang, la coagulation est une gêne constante.

C'est pour obvier à ces inconvénient que successivement ont été essayé le procédé de la sangsue de M. Ch. Lesieur, l'inoscopie de M. Jousset et l'homogénéisation de MM. Bezançon, Griffon et Philibert.

PROCÉDÉ DE M. CH. LESIEUR

L'auteur insiste surtout sur les inconvénients de la coagulation rapide qui emprisonne tous les éléments figurés normaux et anormaux et gêne ensuite l'examen complet du sang.

Aussi propose-t-il d'éviter la coagulation en faisant des prises de sang à l'aide de sangsues.

Les examens bactériologiques que fit M. Lesieur sur le tube digestif de la sangsue, lui permettent de conclure que la flore microbienne de la sangsue à jeun ne peut gêner les recherches bactériologiques. Il recueille ainsi 20 à 25 centimètres cubes de sang rendu incoagulable, qu'il centrifuge aussitôt. On obtient un culot assez considérable comprenant tous les éléments figurés, et naturellement les globules rouges en forment la plus grande partie.

Les résultats expérimentaux dit l'auteur ont été très satisfaisants. Toutes les fois que le sang contenait une quantité suffisante de microbes, en un mot toutes les fois qu'il y avait un véritable septicémie les recherches ont été positives.

Les applications cliniques furent moins satisfaisantes et il conclut en pensant que ces recherches intéressantes ne peuvent pas être érigées en méthode courante de diagnostic.

Cependant nous relevons dans ses observations deux faits positifs et un négatif chez trois sujets atteints de pneumonie, des résultats positifs chez des typhiques et enfin sur vingt tuberculeux examinés à différentes périodes il retrouve cinq fois le bacille de Koch dans le sang.

Nous pensons au contraire que ces résultats que M. Lesieur considère comme rares, sont très

encourageants. Nous ignorions ces travaux pendant les premiers mois de nos recherches, mais nous reconnaissons qu'ils faisaient faire un grand pas à la bactérioscopie du sang.

En effet on évitait la coagulation rapide, et sans avoir à défibriner, on obtenait une concentration dix fois plus grande.

Mais cette concentration est encore insuffisante car M. Lesieur garde intacte les globules rouges. Il obtient ainsi avec vingt centimètres cubes de sang un dépôt de quatre à cinq centimètres cubes, ce qui est trop considérable.

INOSCOPIE

Au lieu d'éviter l'action coagulante de la fibrine M. Jousset, songe au contraire à l'utiliser. Après les résultats encourageants que l'inoscopie avait donné dans les épanchements séro-fibrineux, il songea naturellement à l'appliquer à la bactérioscopie du sang.

Après avoir laissé se former le caillot qui emprisonne dans les mailles tous les éléments figurés, il en provoque la digestion à l'aide d'un suc gastrique artificiel fluoré.

Il ne reste plus qu'à centrifuger pour obtenir au fond du tube le dépôt les éléments qui n'ont pas été détruits.

Mais cette technique ingénieuse reste forcément très limitée, elle détruit tous les éléments normaux du sang. Elle n'a d'ailleurs été appliquée qu'à la recherche du bacille de Koch.

HOMOGENISATION

L'homogénéisation du sang ne s'applique également qu'aux recherches du bacille de la tuberculose. Ce n'est, en somme, qu'une application au sang des méthodes analogues conseillées pour l'examen des crachats par Biedert, Ilkerwitsch, Spengler.

MM. Bezançon, Griffon, Philibert ont obtenu l'homogénéisation des caillots par l'ébullition en présence de lessive de soude. Ce procédé a été ensuite repris par Gargano et Nesti, Kormiezi et Jassinger, Ch. Lesieur. M. Bergeron, dans une thèse très documentée, où sont examinées les diverses méthodes de recherches du bacille de Koch dans le sang, montre combien les résultats sont inconstants et variables.

Les auteurs eux-mêmes reconnaissent que ces manipulations exigent beaucoup de minutie, de délicatesse. La durée et le nombre de ces manipulations expose facilement à des infections secondaires et la constatation ultérieure du développement rapide des bacilles acido-résistants est encore venue compliquer l'interprétation des résultats.

L'inoscopie et l'homogénéisation, beaucoup plus longues que la méthode de Lesieur, ne nous semblent pas préférables. Celui-ci nous offre un procédé pratique, mais insuffisant parce qu'il laisse tous les éléments cellulaires. L'inoscopie, l'homogénéisation nous obligent à faire une critique inverse, ils ne conservent rien que le bacille de Koch.

Nous espérons, en appliquant l'érythrocytolyse, résoudre ces difficultés.

CHAPITRE III

L'HÉMOLYSE IMMÉDIATE

ou Erythrocytolyse.

A la suite des réflexions suggérées par ces divers procédés que nous avons tous employés dans les différents laboratoires où nous avons travaillé, il nous a paru intéressant et utile de faciliter ce genre d'études hématologiques.

En somme, la méthode la plus simple, la plus ancienne, la seule que connaissent les premiers bactériologistes ; la seule possible pour les histologistes, est celle qui permet de constater directement la présence de l'agent pathogène, l'existence de cellules anormales.

Elle reste la méthode pratique de choix pour le diagnostic de beaucoup d'infections : diphtérie, peste, pneumonie, choléra, blennorrhagie.

L'érythrocytolyse, telle que nous la concevons, doit étendre le domaine de cet examen direct à tout liquide sanguin. Et indépendamment de la BACTÉRIOSCOPIE dont elle facilitera l'étude déjà

commencée, elle permettra aussi de rechercher l'existence de cellules anormales, de faire la CYTOSCOPIE du sang. Son application est de date récente, et déjà elle a suscité des travaux de contrôle ou des applications autour de nous et à l'étranger.

Nos premières observations ont été publiées en janvier 1904, et se rattachaient exclusivement à la recherche des cellules cancéreuses. Un travail inédit et plus complet, traitant de la bactérioscopie et de la cytoscopie du sang par l'érythrocytolyse a été présenté au concours du prix de l'Internat en 1905. Enfin, en juillet 1905, nous avons publié avec M. Lœper, dans les *Archives de médecine expérimentale*, les observations qu'il nous a été donné de suivre parallèlement. Peu de temps après, et à la suite de nos travaux dont ils sont dérivés, MM. Nöggerath et Stähelin en Allemagne disaient avoir retrouvé des spirochètes dans le sang.

MM. Nathan-Larrier et Bergeron publiaient dans la *Presse médicale* le procédé de dissolution par l'eau, l'*hydro-hémolyse* que nous avons indiquée dans l'article des *Archives expérimentales*. Leurs résultats sont incomplets, et nous dirons plus loin pour quelles raisons.

CONDITIONS DE L'ÉRYTHROCYTOLYSE

Le globule rouge a une structure et une vie propre, sa physiologie est parfaitement distincte de celle des autres éléments du sang. Sa fixation, ses réactions colorantes nécessitent des procédés appropriés. Ses altérations et ses modifications pathologiques empruntent aussi des caractères spéciaux.

Il n'est donc pas impossible qu'expérimentalement et pratiquement, sa résistance et sa destruction puissent correspondre à des conditions différentes de celles des autres cellules.

C'est ce que nous ont appris, à la suite des travaux de de Vries sur la cellule végétale, les importants mémoires de Hamburger, de Bordet, Camus, Gley, Pagniez, Gryns, Hédon, Nolf, Vaquez et Ribierre.

Nous avons dû reprendre des séries d'expériences avec les substances globulicides pour rechercher celles qui pouvaient correspondre au résultat que nous désirions obtenir. C'est-à-dire qui, *tout en détruisant vite et complètement les hématies, n'altéraient pas les lymphocytes et les éléments étrangers du sang.*

La plupart de ces expériences n'ont d'ailleurs apporté que des résultats négatifs ou, du moins, inutilisables pour nous.

En effet, les auteurs qui ont étudié l'hémolyse défibrinaient le sang, conservaient les globules rouges dans une solution de chlorure de sodium légèrement hypotonique, de façon à étudier le globule lui-même, isolé de son milieu ; tandis que nous cherchons à agir sur le sang complet avec son sérum et sa fibrine, fibrine qui nous donne la coagulation et sérum qui, comme Hédin l'a montré, exerce un rôle protecteur sur les globules rouges.

En outre, la conservation des éléments blancs est assez difficile à obtenir, si l'on veut garder leurs caractères morphologiques et chromatiques.

Nous avons successivement expérimenté les agents globulicides, chimiques, organiques et les alcaloïdes.

Dans les recherches des cellules de certains organes, foie, pancréas, rein et dans la recherche des cellules de tumeurs, nous avons essayé d'utiliser l'action toxique des alexines en nous servant de liquides hémolysants venant d'autres espèces animales.

Nos recherches, dans leur ensemble, sont d'accord avec celles des auteurs qui se sont

occupés de ces questions, sauf cette restriction que la présence du sérum avec le chlorure de sodium et les autres sels minéraux, la fibrine, l'action même des globules blancs modifiaient l'action de certaines substances globulicides.

Cette action globulicide elle-même, suivant les sujets malades, était modifiée par le changement de conditions de milieu.

Aussi, l'inconstance de ces résultats permet de ne pas les rapporter en détail. Nous relaterons seulement les faits précis enregistrés *pour l'examen du sang, pour l'examen des liquides hémorragiques : hémoptysie, urines, pleurésie, liquide céphalo-rachidien.*

Pour le sang. — Toutes les fois que nous avons cherché à obtenir une hémolyse totale par action osmotique, nous avons obtenu un résultat incomplet et généralement lent.

L'eau distillée n'agit que par hypotonicité, elle dissout la matière colorante, comme nous l'avons déjà dit, mais non le protoplasma, qui reste une gène. Aussi ne sommes-nous pas surpris des inconvénients signalés par MM. Nathan-Larrier et Bergeron avec l'hydro-hémolyse qu'ils ont appliquée, alors que nous l'avions déjà signalée, utilisée et abandonnée.

Il faut donc une substance plus active qui, cependant, n'altère pas trop le protoplasma.

Les glycosides sont impraticables, parce qu'ils déterminent de trop grandes altérations cellulaires sur les autres éléments du sang.

Les sérums hémolytiques qui nous avaient été conseillés par M. Carnot ne peuvent être utilisés que comme recherche de curiosité de laboratoire. La difficulté d'obtenir et de garder des sérums hémolytiques équivalents d'une façon constante sont un premier inconvénient. Mais ils ont, en outre, le défaut d'altérer les globules blancs.

Il aurait été intéressant d'obtenir ainsi la différenciation de cellules d'organes circulant dans le sang comme cela doit se produire dans la généralisation de certaines tumeurs.

Nous n'avons jamais pu obtenir de résultat satisfaisant.

Il ne restait donc d'utilisable, pratiquement, que les agents chimiques.

Tous ont été employés en solution liquide assez diluée et agissent pour la plupart par l'action combinée de phénomènes osmotiques et chimiques.

L'hypothèse émise par Nolf présenterait même une explication assez satisfaisante si on la complétait.

Le stroma du globule rouge normalement impénétrable et au contenu et au milieu, se laisse pénétrer par une substance étrangère qui le modifie de telle sorte qu'il augmente son affinité pour l'eau. Il deviendrait ainsi pénétrable pour l'hémoglobine qui passerait dans le milieu extérieur, et aussi pour le corps chimique qui peut agir jusqu'à sa désintégration.

Il est aussi utile de se rappeler que la température agit sur la rapidité de l'hémolyse, c'est vers 37° qu'on obtient les meilleurs résultats.

Après avoir essayé les différents corps chimiques : chlorure de sodium en solutions très hypotoniques, urée, chlorure d'ammonium, fluorure d'ammonium et de sodium, bromure de sodium, chlorure de potassium, iodure de potassium, cyanure de potassium, etc..., nous nous sommes arrêté à l'acide acétique et à l'alcool. Leur action est certaine et leur utilisation est courante.

La solution acétique a été utilisée d'abord en Allemagne pour la numération rapide des globules blancs. Quant à l'alcool, Nikiforoff et Gabritschevsky ont signalé son action globulicide, mais sans l'appliquer.

L'acide acétique peut être employé à dose assez faible, au maximum 0,50, 0,30, 0,25 p. 100.

L'alcool doit être celui employé pour les dissociations, 2 volumes d'alcool à 90° pour 1 volume d'eau distillée ; on peut diminuer la quantité d'alcool, mais jamais l'augmenter, car il exerce alors une action coagulante.

La coagulation est en effet, nous l'avons déjà vu, un des plus gros inconvénients de l'examen direct d'un certain volume de sang.

Mais il est facile de l'éviter lorsqu'on examine le sang lui-même, soit en faisant agir une solution à 1 p. 100 d'oxalate ou de citrate de potasse, soit plus simplement en faisant le mélange progressivement de façon à mettre en contact une petite quantité de sang avec une grande quantité de liquide érythrolytique.

Pour les liquides hémorrhagiques. — Les conditions de l'hémolyse immédiate se trouvent ici modifiées suivant que l'on aura un liquide sanglant rejeté à l'extérieur, hémoptysie, hématomèse, hématurie ou au contraire une hémorrhagie interne dans la plèvre, le péritoine ou les méninges.

HÉMORRHAGIES EXTERNES.—Lorsque le sang est recueilli à sa sortie pour être examiné de suite et qu'il est presque pur, les conditions restent les

mêmes que précédemment. S'il est mélangé à un liquide organique, crachats, salive, urines, on est obligé de tenir compte de l'action de ces derniers liquides, mais surtout d'augmenter la proportion du liquide hémolytique. Nous verrons les détails à propos de la technique.

HÉMORRHAGIES INTERNES.—Souvent les globules rouges n'ont pas subi d'action hémolysante ou du moins celle-ci est incomplète, on a donc tout avantage à la terminer. Dans les exsudats inflammatoires où il excite toujours de la fibrine, il suffit de prendre les mêmes précautions de mélange que pour le sang.

Les conditions de l'érythrocytolyse peuvent se résumer facilement.

Il faut opérer immédiatement après avoir recueilli le sang, ou au moins le plus tôt possible après son émission.

Le mélange avec le liquide hémolysant est plus actif lorsqu'il est fait aux environs de 37°.

La coagulation s'évite en recueillant le sang et si elle existe on peut encore dissoudre la plus grande partie de caillot en le brassant avec une grande quantité de liquide.

Les liquides préférables à employer sont les so-

lutions d'acide acétique à 1 p. 200 et au-dessous,
les solutions d'alcool à 90°, à 2 volumes pour
1 volume d'eau.

CHAPITRE IV

Technique.

Nous allons étudier successivement en détail la technique habituelle pour les examens du sang, et les variations à apporter pour l'examen des liquides hémorrhagiques.

A. EXAMEN DU SANG

1° PRISE DU SANG. — Il est indispensable de faire toujours une prise de sang aseptique. Nous faisons le nettoyage de la peau au savon et à la brosse, puis le lavage à l'alcool et à l'éther ; une fois la peau parfaitement sèche, on pique avec une lancette ou une aiguille.

Suivant la nature des recherches, on peut le recueillir à l'extrémité du doigt pour l'examen de globules blancs et leur numération ; par ponction

dans une veine lorsqu'il s'agit de recherches bactériologiques. Il en est de même lorsqu'on recherche des éléments anormaux autres que les microbes.

2° QUANTITÉ DE SANG. — Suivant les recherches à effectuer, on recueille 5 à 6 gouttes de sang dans 10 centimètres cubes de liquide, ou au contraire 10 centimètres cubes de sang par ponction intra-veineuse que l'on met dans 200 centimètres cubes de liquide ;

3° INSTRUMENTATION. — Nous nous servons des instruments classiques de laboratoire : lancettes, seringues, tubes de Krauss, ballons, etc., mais le tout stérilisé à l'autoclave à 120° :

4° MÉLANGE. — Le mélange doit se faire lentement, lorsqu'on recueille le sang par piqûre du doigt. On peut laisser tomber le sang goutte à goutte dans le tube contenant le liquide hémoly-sant en agitant après chaque goutte de façon à obtenir une dissolution parfaite ; sinon, on risque de laisser se faire une coagulation imparfaite qui devient gênante pour l'interprétation des lames.

Lorsqu'on recueille une plus grande quantité de sang, par ponction d'une veine par exemple, on

peut avec avantage projeter rapidement 10 centimètres cubes de sang dans un ballon contenant 200 centimètres cubes de liquide érythrolytique, et agiter vivement. On laisse reposer le ballon pendant 5 à 10 minutes, on décante la partie supérieure et l'on distribue le reste entre plusieurs tubes à centrifuger.

Enfin, lorsqu'on fait une ponction d'organe, poumon, rate, tumeur, dans laquelle le liquide vient assez lentement, on procède de la façon suivante : on prend une seringue de 20 centimètres cubes contenant 19 centimètres cubes d'alcool au tiers ou d'acide acétique et l'on aspire un centimètre cube de sang. On agite immédiatement et l'on met le mélange dans les tubes à centrifuger.

5° CONCENTRATION. — La centrifugation doit suivre le plus tôt possible l'érythrocytolyse.

Si l'on a opéré avec l'acide acétique, nous trouvons déjà les protoplasmas des leucocytes modifiés, bien qu'ils restent très reconnaissables par leurs noyaux. Lorsqu'il s'agit de recherches bactériologiques, cela a moins d'importance.

L'emploi de la solution alcoolique est pour cela plus pratique. Si l'on arrive à éviter la coagulation, en procédant comme nous l'avons indiqué, on

peut retrouver non seulement les microbes, mais les parasites et les cellules.

La durée de la centrifugation doit être assez courte, trente secondes, une minute suffisent généralement.

6° ÉTALEMENT. — Aussitôt le dépôt obtenu, on décante le liquide coloré, qui surnage au-dessus du culot formé. A l'aide d'une pipette, on recueille ce dépôt. Il est déposé par gouttes sur plusieurs lames porte-objets parfaitement nettoyées et séchées. L'étalement se fait comme pour le sang, à l'aide d'un agitateur en verre ou avec une lamelle.

7° FIXATION. — Les préparations sont séchées à l'air ou légèrement au-dessus de la flamme et traitées par les fixateurs habituels variables suivant la nature des recherches.

Pour les microbes, il peut suffir de fixer par la chaleur, en passant à deux ou trois reprises la lame dans la flamme d'un bec Bunsen.

Mais, d'une façon générale, nous employons des procédés moins brutaux pour retirer de l'examen tous les renseignements possibles.

L'acide osmique employé en vapeurs ou en solution à 1 ou 2 p. 100, nous a donné de très

bons résultats. Peut-être l'action légèrement fixatrice du liquide alcoolique était-elle un inconvénient. En tout cas, si l'on veut l'employer, il est utile de colorer à l'hématéine de Mayer.

L'acide chromique en solution à 1 p. 100 est préférable pour les recherches histologiques.

On peut aussi suivre le procédé conseillé par Jolly pour la fixation du sang, c'est-à-dire ne pas attendre que la lame soit complètement séchée et la plonger dans le liquide fixateur.

L'alcool à 90°, le chloroforme, mais mieux encore, le mélange à parties égales d'alcool et d'éther nous ont donné de bons résultats.

Evidemment, il complète l'action de fixation commencée par le liquide hémolysant et permet toutes les recherches. C'est surtout pour les interprétations de cellules anormales trouvées dans le sang qu'il est utile d'employer d'autres procédés.

8° COLORATION. — Nous nous sommes servi des colorants habituels pour les microbes, bleus, violets, réaction de Gram. Pour le bacille de Koch, nous avons employé exclusivement la fuchsine phéniquée de Ziehl avec décoloration à l'acide nitrique au tiers ou à l'aniline.

Les éléments cellulaires ont été colorés à l'hé-

matoxyline, hémaléine, éosine, orange, bleu de méthylène, bleu de Unna, toluidine, magenta, Benda, triacide d'Ehrlich. Dans quelques cas nous avons recherché la réaction glycogénée avec la gomme iodée suivant la méthode de M. Brault.

B. POUR LES LIQUIDES HÉMORRHAGIQUES

La technique que nous venons d'indiquer pour l'examen du sang donne des résultats assez constants ou, du moins, comparables. Il n'en est pas de même pour les liquides hémorrhagiques. La constitution chimique des liquides, leur action nuisible sur les globules blancs aussi bien que sur les globules rouges, les proportions variables de liquide étranger mélangé au sang viennent un peu modifier la technique.

SANG CONTENU DANS LES SÉREUSES. — En général, il est peu modifié, ou associé à un liquide, de l'organisme se rapprochant du sérum sanguin. Lorsque les globules rouges sont altérés, comme l'a signalé Bard (de Genève), les globules blancs persistent. M. Froin vient d'étudier, dans une thèse récente, le mécanisme de l'hémolyse et de la résorption du sang, ainsi que le rôle joué par

les différents globules blancs qui étaient suffisamment conservés.

Aussi, dans les liquides hémorrhagiques des séreuses, procède-t-on comme pour le sang. Ponction de 10 centimètres cubes à projeter dans un ballon et à traiter comme nous l'avons indiqué plus haut.

Ou bien ponction à l'aide d'une seringue de 20 centimètres cubes au trois quarts pleine dans laquelle on aspire 2 centimètres cubes de liquide hémorrhagique.

Cela dépend de la concentration utile à obtenir. C'est ainsi qu'il nous faut procéder pour les épanchements pleurétiques, péricardiques, péritonéaux, pour les liquides articulaires et le liquide céphalo-rachidien.

HÉMOPTYSIES. — Dans les hémoptysies datant d'un jour et plus, il ne faut rien examiner; car le contact à l'air permet la contamination et tout résultat obtenu par n'importe quelle méthode est sujet à caution.

Il faut recueillir l'hémoptysie le plus tôt possible, dans quatre ou cinq fois son volume de liquide érythrolytique.

Le sang craché est toujours plus ou moins visqueux, adhérent au vase, mélangé quelquefois de crachats, de mucine, et se coagule facilement.

On fait un mélange aussi intime que possible dans une capsule de porcelaine à l'aide d'un agitateur qui brasse le liquide hémorrhagique et dissocie les caillots formés. Après quelques minutes de repos, on décante la partie supérieure, et le liquide qui reste dans la capsule est réparti dans des tubes de Krauss.

On centrifuge, étale, fixe, et colore comme précédemment.

Il arrive que l'on a entraîné quelques parcelles de caillots, de la mucine, qui laissent des dépôts sur les préparations, mais il n'en est pas moins vrai que l'on y retrouve non seulement le bacille de Koch, les streptocoques, les pneumocoques ; mais aussi les globules blancs du sang qui sont conservés avec leurs réactions colorantes.

HÉMATURIES. — Lorsque l'hématurie remonte à 24 heures, le procédé est inapplicable comme les autres, car toutes les cellules sont altérées, et les infections microbiennes surajoutées sont certaines. Or, les infections peuvent, lorsqu'elles sont récentes, exercer une action, la toxine streptococcique par exemple provoque l'hémolyse.

Quant à l'action nocive de l'urine, elle est multiple, comme l'a montré Pagniez, et elle agit :

a) Par osmo-nocivité : dans les urines hypotoniques $\Delta = -40 - 30$ elle peut faire éclater les

globules, mais habituellement, elles sont hypertoniques et les déforment en boules épineuses.

b) Par son action globulicide vraie :

L'urée qui en toute concentration provoque l'hémolyse (Gryns) ;

L'acidité qui joue un rôle incontestable, Hédin a montré l'action favorisante des solutions alcalines.

Les phosphates, l'acide hippurique surtout qui chez l'homme paraît jouer le rôle le plus important dans le pouvoir globulicide des urines. Mais il faut aussi tenir compte de la teneur en sang de l'hématurie pour apprécier les déformations apportées aux globules rouges et blancs.

Si le sang est très abondant, les globules se partagent en quelque sorte l'hémolysine, tous sont frappés, mais aucun détruit. C'est le cas le plus favorable pour obtenir des résultats par l'érythrocytolyse.

Si le sang est en faible quantité, tous les globules sont atteints.

Ces considérations sont indispensables afin de faire comprendre la différence des résultats obtenus. On conçoit aisément, qu'ils ne peuvent être comparables entré eux comme le sont les examens de sang pur.

Lorsque l'hématurie date de quelques heures, on

recueille seulement le fond du verre où l'urine a été conservée. Le mélange est fait avec deux et trois fois le même volume de liquide hémolysant, puis réparti comme précédemment pour être centrifugé, étalé, fixé et coloré.

Mais si l'on assiste à l'hématurie, le meilleur procédé est de recueillir directement le sang dans un verre à expérience contenant l'alcool au tiers, de mélanger en même temps avec un agitateur et de laisser, se produire spontanément la sédimentation. Au bout d'une demi-heure on peut examiner le sédiment. On évite ainsi les déformations cellulaires dues à la centrifugation, qui sont légères pour les globules blancs, mais toujours très marquées pour les cellules épithéliales.

La technique est donc modifiée, en ce qui concerne les liquides hémorrhagiques, pour recueillir le sang et obtenir son mélange. Quant aux résultats, nous avons dit pourquoi et comment ils pouvaient être différents, cela dépend non pas de la méthode, mais du liquide examiné.

INCONVÉNIENTS DE LA MÉTHODE

Comme toute méthode, l'érythrocytolyse n'est pas parfaite ; nous le reconnaissons volontiers.

Depuis deux années que nous l'employons, nous la considérons encore comme à ses débuts. Les hypothèses logiques qui ont permis de l'instituer facilement présentent pratiquement des difficultés que nous nous sommes successivement efforcé de résoudre.

Nos examens n'ont pas toujours été suivis de succès, ils ne pouvaient l'être. Mais le nombre et la variété des résultats positifs que nous apportons démontrent l'utilité de ce procédé et les services qu'il peut rendre.

Il est deux objections qui doivent se présenter à l'esprit et auxquelles nous tenons à répondre, c'est :

1° *L'altération des cellules par le liquide hémolytique ;*

2° *Les modifications morphologiques apportées par la centrifugation ;*

1° *Altérations cellulaires causées par les liquides érythrolytiques.* — Nous ne pouvons pas reprendre la série des liquides utilisés pour la recherche de la destruction élective des globules rouges, et indiquer leurs inconvénients respectifs. Nous nous en tiendrons aux deux solutions conseillées.

L'acide acétique à 1 p. 200 et les solutions plus diluées assurent très vite l'hémolyse, mais il faut procéder très rapidement pour les recherches

histologiques. L'hémoglobine subit très vite des modifications chimiques qui donnent au liquide une teinte noirâtre et sale.

Les cellules sont rapidement altérées dans leurs formes.

Enfin, les réactions colorantes sont gênées. C'est cependant avec cette solution que nous avons fait nos premières recherches, et les premières observations communiquées à la Société de biologie avec M. Lœper indiquent uniquement ce liquide.

Aujourd'hui nous l'avons à peu près abandonnée, si ce n'est pour les recherches bactériologiques, ou il n'est pas nécessaire de conserver des cellules.

L'alcool à 90° employé au tiers nous semble bien préférable. Les cellules sont bien un peu rétractées si le contact a duré plus d'un quart d'heure, mais elles conservent leurs formes et leurs réactions chromatiques. Donc, pour les recherches bactériologiques, les deux liquides peuvent s'employer.

Pour la recherche des cellules normales et anormales, il est préférable de se servir de l'alcool qui a une action modifiante légère, mais pas plus gênante que lorsqu'on l'emploie en histologie pour les dissociations.

2. *Inconvénients de la centrifugation.* — La concentration des éléments est obtenue par un procédé brutal, la centrifugation.

Elle est très justement critiquée par les histologistes, et toutes les fois que cela est possible, comme dans certaines hématuries, nous lui préférons la sédimentation simple. Mais d'abord, pour ce qui concerne les leucocytes, leur résistance est telle, qu'ils sont vraiment peu modifiés. Le cyto-diagnostic des épanchements pleuraux et du liquide céphalo-rachidien a fait ses preuves. Nous pensons que l'*érythrolyso-diagnostic*, en ce qui concerne la conservation des éléments blancs du sang, jouit des mêmes avantages.

Quant aux cellules cancéreuses, il n'est pas toujours facile de se rendre compte des modifications pathologiques apportées. C'est peut-être pour cette raison que presque jamais nous n'avons pu retrouver dans le sang de cellules épithéliales, malgré toutes les précautions prises et le nombre de cas examinés. Mais les cellules sarcomateuses sont beaucoup plus résistantes, elles sont même peu déformées. Le seraient-elles même davantage, qu'elles conservent cependant leurs réactions chromatiques comme nous avons pu nous en rendre compte en les comparant aux cellules pri-

ses à même la tumeur et traitées d'une façon identique.

En résumé, nous reconnaissons ces légers inconvénients auxquels nous pourrions peut-être remédier un jour. Actuellement, ils n'infirmement en aucune façon les résultats trouvés.

AVANTAGES DE LA MÉTHODE

Ce que nous avons dit de la technique montre que le procédé que nous préconisons est presque aussi rapide que l'examen direct, dont il conserve presque tous les avantages.

Par sa rapidité et l'emploi d'instruments stérilisés, on évite toutes les chances d'infection secondaire, analogues à celles que certains auteurs ont reprochées à l'inoscopie.

Grâce à son action élective, elle conserve non seulement les agents de l'infection, mais aussi les témoins de cette infection, les globules blancs. Et cette conservation des éléments figurés nous a permis, avec M. Lœper, de rechercher les cellules cancéreuses dans le sang et d'en trouver, de constater la *néocytémie*.

En même temps que nous apportons une nouvelle méthode à la bactériologie du sang, nous commençons, des premiers, l'étude de la cytoscopie sanguine.

CHAPITRE V

Application de la méthode et ses résultats.

Nous pourrions étudier isolément les résultats expérimentaux et les résultats chimiques. Mais après ce que nous avons exposé de nos recherches, il nous paraît plus logique maintenant de citer seulement nos expérimentations comme appui ou complément de nos observations.

Conservant la division faite pour la description de la technique, nous subdiviserons ce chapitre en deux parties, qui traiteront à part :

A. Le sang ;

B. Les liquides hémorrhagiques.

Et dans chaque partie nous rechercherons successivement les éléments normaux, les éléments rares et anormaux, puis les microbes et parasites.

A. L'HÉMOLYSE IMMÉDIATE APPLIQUÉE AUX EXAMENS DU SANG

1° NUMÉRATION QUALITATIVE ET PROPORTIONNELLE

Notre procédé à l'alcool agit d'une façon analogue, mais préférable à celui indiqué par Thomas Zeiss pour l'examen des éléments blancs du sang.

Il est infiniment plus précis, car la forme des cellules est conservée et, grâce à la centrifugation, on obtient de cinquante à quatre-vingts éléments par champ microscopique en employant l'objectif à immersion à un quinzisième de Verick-Stiassnié. La figure 1 permet de se rendre compte de cet avantage.

Mais, en outre, les réactions chromatiques sont conservées parfaitement, ce qui est très important. Et après fixations des lames à l'acide osmique, les granulations des polynucléaires eux-mêmes, dont la fragilité est bien connue, se colorent par le triacide d'Ehrlich.

Lorsque le nombre des cellules blanches est sensiblement diminué, ce procédé devient utile. Il est aussi très pratique lorsqu'on veut se rendre compte rapidement des rapports des leucocytes

entre eux, sans être obligé d'examiner un nombre considérable de lames.

Pendant deux années, nous l'avons appliqué successivement dans les services de MM. les docteurs Brault et Gaucher.

Nous ne pouvons être que très bref sur les nombreuses observations dans lesquelles il a été appliqué, dans la pneumonie, la fièvre typhoïde, les infections grippales, le rhumatisme, la syphilis, etc.

Les polynucléoses des infections, les lymphocytoses ou myélocytoses des leucémies sont très frappantes par la simplicité et la rapidité de la numération (1).

Nous rapportons seulement quelques observations suivies à l'hôpital Saint-Louis.

OBSERVATION I (personnelle).

(Service de M. le professeur Gaucher.)

Lymphadénie, lymphocytémie.

D... Ch., âgé de 46 ans, observé en juin 1905.

Début de la maladie il y a quatre mois par des ganglions au niveau des aînes. Depuis, le volume des

(1) M. Hallion, au Congrès français de Chirurgie de Paris a, lui aussi, indiqué, peu de temps après nous, ce procédé rapide d'examen.

ganglions a progressivement augmenté, il en est apparu de nouveaux dans les aisselles et à la région cervicale. En même temps, œdème des jambes et des bras, gêne de la respiration accompagnée de quintes de toux coqueluchoïde.

La rate est très augmentée de volume.

Nous procédons à un examen du sang après dissolution des globules rouges et centrifugation. Nous constatons une leucocytose très notable avec les proportions suivantes : lymphocytes, 80 p. 100 ; cellules à noyaux polymorphes, 20 p. 100 ; pas d'éosinophiles.

On trouvait en moyenne de 50 à 80 cellules blanches par champ microscopique. L'examen par étalement simple dénotait la lymphocytose, mais la proportion était longue à établir, ce qui fut fait presque instantanément par notre procédé.

OBSERVATION II (personnelle).

(Service de M. le docteur Danlos).

Mycosis fungoïde. Eosinophilie.

Pr. L..., 40 ans. Le malade a eu la syphilis il y a dix ans.

Le début de l'affection actuelle remonte à quatre ans. Les tumeurs mycosiques sont apparues d'emblée sans prurit, sans érythème. Depuis ce temps, elles se sont multipliées et occupent la poitrine, l'abdomen, le dos et les lombes.

Il existe, au niveau de la région lombaire droite,

une tumeur large comme les deux mains, très saillante et ulcérée.

La conservation de l'état général est parfait.

L'examen du sang sec sur lame dénote une leucocytose accentuée : 14.000 leucocytes.

L'examen, après érythrocytolyse, montre 50 p. 100 de mononucléaires, 10 p. 100 d'éosinophiles.

OBSERVATION III (personnelle).

(Service de M. le professeur Gaucher).

Mycosis fongoïde. Eosinophilie.

Femme de 64 ans, malade depuis environ un an.

La maladie a débuté par des éruptions très prurigineuses sur les membres inférieurs, le tronc a été ensuite envahi ; depuis quatre mois, la face et les extrémités sont intéressées.

L'état général de la malade est peu satisfaisant.

L'examen du sang sec sur lame révèle une diminution du nombre des globules rouges et une leucocytose accentuée, quelques cellules éosinophiles.

Après l'érythrocytolyse, on trouve les éléments polynucléaires très prédominants, mais surtout une éosinophilie de 18 p. 100. (voir figure 1)

Dans ces deux cas de mycosis fongoïde, comme dans un cas d'érythème mercuriel observé par M. Lœper, l'éosinophilie saute pour ainsi dire aux yeux à un examen rapide et superficiel.

C'est donc une méthode pratique pour l'examen des éléments habituels du sang.

Mais elle est encore beaucoup plus justifiée lorsqu'on recherche des éléments normaux mais rares : des éosinophiles, au début de la crise qui précède la convalescence dans les maladies infectieuses, les macrophages, les plasmazellen, les myélocytes, dont la constatation est difficile sur une lame de sang sec et dont la fréquence présente un intérêt à l'état normal, mais surtout pathologique.

Ces résultats ne sont pas surprenants, mais ils permettent de simplifier beaucoup, dans la plupart des cas, en le rendant très rapide, l'hémodiagnostic.

2° RECHERCHE DES ÉLÉMENTS ANORMAUX DU SANG

A. Cellules cancéreuses. — Néocytémie.

Nous avons déjà dans un chapitre précédent, cité les observations dans lesquelles l'essaimage de cellules cancéreuses était indiqué par la marche de l'affection et par les constatations histologiques.

1° EPITHÉLIOMES. — Nous laissons de côté les

tumeurs épithéliales en général. A part une observation d'épithélioma pavimenteux, toutes nos recherches faites pour retrouver des cellules épithéliales ont été douteuses, aussi les considérons-nous comme infructueuses. Le passage des cellules dans les vaisseaux est certain, ainsi que le montrent les coupes en série du foie et du poumon, mais la constatation n'est pas absolument certaine.

Cependant, dans un épithélioma énorme et récidivant du sein, étendu secondairement à la plèvre, et dans un épithélioma utérin généralisé au foie et au poumon, nous avons trouvé quelques cellules à noyau différent des macrophages et des leucocytes, à protoplasma plus flou et plus granuleux, bien analogue à celles de la tumeur elle-même.

2° SARCOMES. — Les sarcomes au contraire nous ont donné des résultats intéressants. Devons-nous penser que leur richesse en vaisseaux, leur orientation et peut être leur origine périvasculaire, favorisent l'essaimage des cellules néoplasiques ? Est-il plus exact de penser que les cellules conjonctives des sarcomes résistent mieux aux manœuvres de l'hémolyse immédiate que les cellules épithéliales ? Cela est vraisemblable et les faits que nous apportons semblent le prouver.

OBSERVATION IV (personnelle).

(Service de M. le docteur Brault).

Sarcomatose généralisée (néocytémie)(1).

B..., 34 ans, cocher. Entré le 4 décembre 1904, décédé le 11 décembre 1904.

Le malade avait été opéré en août 1903 pour une sinusite fronto-maxillaire droite.

Deux mois après, sont apparues des tumeurs multiples sur la joue, l'orbite, le cou et la nuque.

Ces tumeurs sont assez molles; peu douloureuses, rapidement recouvertes de veinosités. Sur quelques-unes la peau s'ulcère et il se produit des hémorrhagies abondantes et répétées.

Quelques semaines après cette explosion de tumeurs sur la tête, toute la peau est envahie par des tumeurs semblables disséminées au hasard.

Depuis deux mois, l'amaigrissement est considérable, et le malade est affaibli par des hémorrhagies.

La rate et le foie sont volumineux.

La respiration est difficile, il existe du cornage et quelquefois des quintes de toux coqueluchoïde.

L'examen des urines indique une hyperacidité.

L'élimination de l'urée atteint 34 grammes par 24 heures et l'acide urique 1 gr. 20.

L'examen du sang permet de compter 2.500.000 globules rouges, 10.000 globules blancs.

L'autopsie faite le 12 décembre, montre des masses

(1) M. Lœper et Louste. Soc. biolog., 1904.

sarcomateuses autour de la trachée et des bronches. Tous les organes sont absolument farcis de noyaux secondaires. Il est impossible de pouvoir préciser exactement le point de départ.

Erythrocytolysé. — L'examen du sang sec sur lame ne révèle rien d'anormal que la leucocytose banale.

Après l'érythrolyse obtenue avec la solution acétique à 1 p. 200 et portant sur 20 gouttes de sang recueilli au doigt, on voit à côté des globules blancs qui prennent imparfaitement la coloration des cellules volumineuses fortement colorées.

Sur une préparation que nous figurons ici, on voit au milieu de polynucléaires et de quelques mononucléaires et lymphocytes, quatre cellules intactes, qu'il est impossible, malgré l'analogie de forme, de classer parmi les éléments du sang (1).

« Le noyau situé à peu près au centre de l'élément est assez régulier, mais en général un peu déprimé ou échancré ; son volume atteint le tiers de la cellule. Le protoplasma finement granuleux se teintait en gris sale par le triacide, en violet clair par l'éosine hémateïne, en bleu assez foncé par la thionine et le bleu de Unna. »

Les réactions du noyau étaient franchement violettes par l'hématéine, vert foncé par le triacide et bleu par la thionine. Plus foncé que le reste de l'élément, il était semé de petits grains de chromatine dont deux ou trois assez considérables. Il est assez facile de voir que ces éléments diffèrent des autres cellules leucocytaires.

(1) Article de Lœper et Louste, dans *Archives de Médecine expérimentale*, juillet 1905.

Ils sont plus petits que certains macrophages, leur protoplasma se teinte plus énergiquement, leur noyau moins volumineux, plus foncé, est plus riche en chromatine. Bien plus, ils prennent à la fois les deux couleurs éosine et hémateïne, réaction qui, au dire des cytologistes, et particulièrement de Dominici, suffit à les classer hors de la série leucocytaire, et plus près de la cellule conjonctive jeune.

D'autres cellules plus petites appartiennent certainement au même type, mais leur distinction est délicate malgré cette double réaction du protoplasma, cette irrégularité relative du noyau qui les différencie des lymphocytes, malgré la teinte foncée de l'élément qui le sépare nettement des monocléaires clairs et même des mononucléaires ou myélocytes basophiles à noyau transparent.

Deux caractères viennent encore affirmer la nature sarcomateuse de certains de ces éléments : l'un présente nettement deux noyaux, l'autre une figure de karyokinèse indubitable.

Pour nous convaincre encore, nous avons comparé les coupes des tumeurs enlevées, les frottis, avec les cellules anormales contenues dans le sang, et nous pouvons affirmer l'identité de leurs réactions histologiques.

Dans ce cas, nous avons pu saisir le passage des cellules néoplasiques dans le sang et le mettre en évidence. Il y avait une véritable *néocytémie*.

OBSERVATION V (personnelle).

(Service de M. le D^r Brault.)

Sarcome de l'épaule.

Femme de 64 ans, soignée salle Langle B, pour un énorme sarcome de la région sus-claviculaire gauche envahissant le cou et l'épaule. La tumeur très volumineuse n'est pas ulcérée, elle est sillonnée de nombreuses veines.

L'état général est faible, depuis deux mois la malade a beaucoup maigri, on ne constate cliniquement aucune autre localisation.

L'examen du sang pris au niveau du doigt et traité par l'érythrocytolyse ne révèle qu'une leucocytose banale ; nous ne retrouvons pas de cellules normales.

Nous faisons une prise de sang de 10 centimètres cubes dans une des veines sillonnant la tumeur, après nous être assuré que l'aiguille était bien dans la veine et non dans la tumeur, que l'on pouvait mobiliser sous l'aiguille.

Ce sang de la veine, traité par notre procédé, permet de retrouver un certain nombre d'éléments sarcomateux, caractéristiques par leur volume, leurs réactions chromatiques.

Comme contrôle, nous avons fait une ponction en pleine tumeur, le sang ainsi retiré fut traité de la même façon et il y avait un nombre considérable cette fois de cellules identiques à celles trouvées dans la tumeur.

Malheureusement, l'autopsie ne put être faite.

Il nous paraît probable que déjà la malade essayait dans sa circulation les cellules néoplasiques qui vinrent se greffer dans le poumon et entraînèrent la mort.

OBSERVATION VI

(Communiquée par M. Lœper.)

(Service de M. le professeur Dieulafoy.)

Sarcome myéloïde de l'humérus.

Il s'agissait d'un individu jeune atteint d'un volumineux sarcome de l'humérus déjà avancé.

Le sang recueilli par ponction du doigt ne donne aucun résultat. Mais le sang recueilli avec les précautions voulues dans une veine du bras fut positif. M. Lœper retrouva une cellule très caractéristique, à protoplasma presque translucide et incolore, à contours nets, à noyau ramassé et assez riche en chromatine, qui intrigua beaucoup, mais dont il fut facile de vérifier l'analogie avec les éléments transparents à contour délié et si riches en glycogène de la tumeur elle-même.

Dans plusieurs autres faits observés par nous dans divers services de chirurgie de Lariboisière, nous n'avons rien retrouvé. Mais ces cas étaient

des néoplasies récentes, peu étendues, sans grande altération de l'état général.

Ces observations portaient sur deux sarcomes du fémur, un ostéo-sarcome du bassin, deux sarcomes du maxillaire inférieur, un fibro-sarcome de la paroi abdominale antérieure.

3°. *Lymphadénie*. — La leucémie est trop spéciale pour mériter le nom de néocytémie. Mais le lymphadénome avec cellules lymphadéniques circulant dans le sang rentre dans cette catégorie. Dans les lymphadénomes, le nombre des mononucléaires augmente quelquefois, et nous en avons observé comme d'autres auteurs.

Mais il est impossible de reconnaître dans ces éléments mononucléés, ceux qui appartiennent au sang et ceux qui proviennent du néoplasme.

Nous avons la conviction cependant, que ces tumeurs lymphadéniques des ganglions, de la rate, ou de tout autre organe, essaient des cellules dans le sang, et l'observation suivante en est une preuve.

OBSERVATION VIII

(Communiquée par M. Lœper — service de M. le docteur Dieulafoy.)

Lymphadénie.

Un homme de 23 ans présente, au niveau du cou, une tumeur du volume d'une tête de fœtus, dont la nature tuberculeuse est discutable, dont la nature néoplasique est difficile à fixer. La numération des globules blancs donne 11.000 leucocytes dont 41 p. 100 de mononucléaires et 4 p. 100 d'éosinophiles. On pense à un des cas de « lymphocytémie minima ».

La proportion varie les jours suivants.

Nous pratiquons alors l'examen d'un centimètre cube de sang après dissolution des globules rouges et nous avons pu retrouver des éléments à protoplasma fortement coloré, à noyau à mitose dont l'un est représenté dans la figure 4 et dont la nature ne parut pas douteuse à notre maître Dominici lui-même.

Dans un autre cas de lymphadénome, on put retrouver une cellule identique.

Il est possible d'objecter que les cellules en kariokynèse existent chez des individus sains et dans d'autres affections que la lymphadénie.

Mais sur 37 examens faits par M. Lœper, jamais il ne rencontra ces cellules ; sur 10 cas

examinés par nous-même, il fut impossible d'en déceler la présence. En dehors de ceci, remarquons sur la figure 4 l'intégrité de la cellule en kariokynèse. Alors que toutes les autres cellules, lymphocytes et polynucléaires, soumises trop longtemps à l'action du dissolvant, ont subi des altérations, cette cellule a conservé son intégrité.

Ces observations de néocytémie apportent un argument favorable à l'hypothèse discutée de la généralisation des néoplasmes par voie embolique; mais leur nombre est aussi trop faible pour juger la question.

Il suffit de signaler l'importance pratique pour le diagnostic et le pronostic des tumeurs dans lesquelles les nombreux travaux sur les modifications de la formule leucocytaire n'ont donné aucun résultat.

Même si l'on admettait seulement que nos observations positives se rapportent à des néoplasmes généralisés ou en voie de généralisation, elles conserveraient une grande importance; elles jugeraient l'opportunité d'une intervention chirurgicale et fixeraient le pronostic.

Mais il est bien probable que comme pour les infections microbiennes, il peut y avoir un passa-

ge discret de cellules dans le sang, qui ne soit suivi d'aucune nouvelle localisation.

L'activité des cellules ainsi isolées est rapidement diminuée au milieu du sang et, avant de pouvoir se fixer, elles sont détruites dans les tissus, dans la rate et dans le sang lui-même par les macrophages.

On peut même se demander si la généralisation rapide qui suit souvent et rapidement les tentatives d'excès des sarcomes des os, n'est pas facilitée en même temps que par l'ouverture des vaisseaux au contact de parties lésées, par l'arrêt de fonction des macrophages anesthésiés de longues heures par le chloroforme.

Nous apportons au clinicien un élément de diagnostic précieux, et ces constatations conservent un intérêt particulier pour la physiologie pathologique générale.

B. GRANULATIONS PIGMENTAIRES

L'existence des granulations pigmentaires dans le sang peut être utilement recherchée. Leur constatation est aujourd'hui un fait établi dans un certain nombre de maladies, dans la sarcomatose mélanique généralisée, le diabète bronzé,

l'impaludisme, la maladie d'Addison, Bonnet en a même signalé chez le rat après l'extirpation des capsules surrénales. Nous rappellerons brièvement les recherches que nous avons faites.

MÉLANODERMIE PHTIRIASIQUE

Un cas a été observé à l'Hôtel-Dieu par M. Lœper. Il existait une pigmentation très accentuée du tronc de l'abdomen, des plaques buccales.

La malade était très cachectisée.

On trouva dans le sang une légère éosinophilie avec anémie. Après l'hémolyse, il fut impossible de déceler une trace de pigment dans le sang.

Cela, d'ailleurs, n'est pas surprenant, étant donnée l'origine cellulaire et non hématique de cette pigmentation phtiriasique, dans laquelle l'irritation locale joue un rôle si considérable.

Comme confirmation de ce fait et pour compléter la valeur négative de cette observation, la biopsie permit de vérifier la nature non ferrugineuse de la mélanodermie.

Chez deux malades observés à Saint-Louis, dans le service de M. le professeur Gaucher, et dans lesquels la vérification biopsique n'a pas été faite, la recherche de pigments dans le sang fut également négative.

MALADIES D'ADDISON

OBSERVATION VIII

Chez une malade addisonnien, observée dans le service de M. le docteur Brault, et arrivée à la période de cachexie, avec diarrhée; amaigrissement, l'examen du sang, avec hémolyse immédiate, fut négatif.

Deux autres observations, communiquées par M. Lœper, donnent des résultats semblables.

OBSERVATION IX

Il s'agit d'un homme de 40 ans, présentant des douleurs lombaires de l'œdème des jambes, des troubles digestifs, de la tachychardie, et amélioré par l'extrait surrénal et d'adrénaline.

Il n'existait pas de cellules pigmentées dans le sang hémolysé. La vérification de la nature de la mélanodermie a été faite par biopsie.

OBSERVATION X

Homme de 34 ans, atteint de tumeur blanche du coude.

La mélanodermie remonte à trois ans et fut traitée par l'extrait de capsules surrénales à plusieurs reprises. Il présente de l'asthénie, des douleurs lombaires très violentes et des crises de diarrhée incoercible.

L'hémolyse immédiate ne montre pas de cellules pigmentaires dans le sang.

La vérification de la nature de la mélanodermie fut vérifiée à l'autopsie.

Ces trois observations, faites isolément, nous laissent supposer que l'origine hématique du pigment addisonnien, produit par l'excitation du grand sympathique, comme l'admettent Von Kahlden, Nothnagel et Riehl, demande une confirmation nouvelle.

L'érythrolyse permet beaucoup plus facilement ce genre de recherches et pourra contribuer à isoler les affections avec pigments d'origine sanguine, comme celui du diabète bronzé que l'on retrouve dans le sang, des pigments d'origine cellulaire que nous n'avons pas retrouvé.

Nous avons déjà signalé ces faits dans un article antérieur publié avec Lœper (1).

DIABÈTE BRONZÉ

N'ayant pu étudier le sang au cours du diabète bronzé chez l'homme, nous avons essayé de réaliser chez le lapin un véritable encombrement pigmentaire.

(1) Lœper et Louste. In *Archiv. méd. expér.*, juill. 1905.

Nous nous sommes d'abord assuré que l'alcool au tiers ne faisait subir aucune altération au pigment ocre. On prit un fragment de foie bronzé très riche en pigment rouillé, stérilisé au formol et lavé à l'eau distillée stérilisée. Ce fragment fut inclus dans le péritoine de l'animal. Le sang du lapin fut examiné avec l'hémolyse immédiate les jours suivants.

Le troisième jour, on ne retrouvait encore aucune granulation ; le cinquième jour, l'examen fut très nettement positif, non seulement avec le sang de la veine cave inférieure, mais avec celui de la veine de l'oreille.

On pouvait compter sur une même lame deux leucocytes chargés de pigment et une dizaine de granulations.

Cette expérience est tout à fait démonstrative et laisse entrevoir les résultats à obtenir chez l'homme.

SARCOME MÉLANIQUE

Nous n'avons eu à observer chez l'homme que des tumeurs mélaniques jeunes, peu étendues, qui furent modifiées sous l'influence de la radiothérapie. Il a été possible de vérifier l'état des cellules mélaniques traitées par notre procédé,

mais avec le sang provenant de la tumeur seulement, jamais encore avec le sang de la circulation générale.

Chez le cheval, nous avons pu vérifier l'existence de cellules mélanifères dans le sang.

OBSERVATION XI (personnelle).

(Service de M. le professeur Gaucher.)

Sarcome mélanique du pied.

Kauf, 57 ans.

Opérée à 36 ans d'un sarcome du sein droit par M. Nélaton.

Depuis sept ans, n'a eu aucune manifestation de ce côté.

Depuis quatre ans, sur un nævus pigmentaire de la plante du pied droit, est apparue une tumeur qui s'est surélevée et s'est étendue en surface. Cette tumeur est sessile, de consistance ferme, à surface mamelonnée, irrégulière, de coloration noirâtre, ulcérée en un point et saignant facilement.

Il existe un ganglion inguinal droit.

A part les troubles fonctionnels de la marche, il n'existe aucune modification de l'état général.

L'hémolyse immédiate faite avec XX gouttes de sang obtenu par piqûre du doigt, ne révèle rien d'anormal.

La ponction de la tumeur avec une aiguille et une seringue de Pravaz donne 2 centimètres cubes de sang. Avec l'hémolyse immédiate on retrouve des cellules mélanifères parfaitement conservées.

SARCOME MÉLANIQUE CHEZ LE CHEVAL

Nous devons à l'obligeance de M. Coquo, de l'école d'Alfort, d'avoir pu examiner du sang de cheval blanc atteint de sarcomes mélaniques.

Ces chevaux étaient déjà âgés, et présentaient un certain nombre de tumeurs mélaniques.

La prise du sang fut faite dans la veine jugulaire avec les précautions d'usage.

On préleva chaque fois 10 centimètres cubes de sang qui fut aussitôt hémolysé et examiné quelques heures après.

Il fut facile de retrouver sur une des lames des granulations pigmentaires caractéristiques, et des cellules chargées de mélanine.

Il est difficile dans ces cas d'affirmer s'il s'agissait de leucocytes chargés de pigments, ou de cellules mélanifères détachées de la tumeur.

Le liquide employé pour dissoudre les globules rouges était une solution acétique qui, nous l'avons vu, altère assez vite les protoplasmas des cellules et gêne la coloration. Malgré cette cause d'erreur due à la technique, les deux hypothèses restent plausibles. Nous avons précédemment cité des observations où les cellules sarcomateuses avaient été retrouvées dans le sang, et il est fort

possible d'admettre qu'à côté des leucocytes mélanifères dont on sait l'existence, il y ait des cellules détachées des sarcomes mélaniques.

Recherche des éléments microbiens et parasitaires dans le sang.

FAITS EXPÉRIMENTAUX

Nous avons dû, tout d'abord, nous assurer de la possibilité de retrouver les microbes et de les retrouver avec leurs caractères distinctifs.

Là encore, la solution alcoolique nous a donné les meilleurs résultats.

Nous avons injecté dans les veines, à des lapins et à des cobayes, des cultures pures de streptocoques, staphylocoques, bacilles d'Eberth, colibacilles, pneumocoques, bacilles de Koch. Les recherches ont été faites les heures suivantes, 4, 6, 10, 15, 24 heures, dans le sang retiré par ponction du cœur. Toutes les fois où il y avait septicémie, nous avons retrouvé à l'état pur et avec leurs caractères les microbes injectés.

Il a été impossible de faire des expériences analogues avec les parasites habituels de l'homme.

Les paludéens en état de crise sont très difficiles à rencontrer, les parasites des pays tropicaux n'ont pu être examinés. Mais, assez récemment, MM. Lœper et Crouzon ont publié une observation suivie dans le service de M. le professeur Dieulafoy, où l'érythrolyse a donné des résultats expérimentaux positifs.

PARASITES

OBSERVATION XII

(Communiquée par MM. Lœper et Crouzon.)

Un cas de mycose hypodermique généralisée.

J. D..., âgé de 47 ans, entre à l'Hôtel-Dieu en décembre 1904 pour des accidents hépatiques que l'on pense être d'origine alcoolique. Quelque temps après apparaissent des abcès furoncleux du thorax et de l'abdomen, puis des nodosités sur les bras, la poitrine, le front et le cuir chevelu. Ces nodosités étaient, les unes superficielles, les autres profondes. A la compression on avait une sensation d'écrasement analogue à celle que donnent certains kystes synoviaux.

On élimine l'hypothèse de ladrerie, de lipomes multiples, de neurofibromatose, de sarcomatose hypodermique.

Devant l'impossibilité d'établir un diagnostic précis, on fait une biopsie.

L'examen complet avec cultures sur différents milieux, coupes histologiques, etc., montra l'existence

d'un parasite du genre *ascomycète*, se rapprochant des trichophytons.

L'inoculation aux animaux reproduisit des tumeurs analogues à celles observées chez l'homme.

Mais l'expérience qui nous intéresse fut faite par M. Lœper. Il inocula dans la veine d'un lapin une culture pure faite sur bouillon de carotte. Huit heures après l'inoculation, le sang fut recueilli et traité par l'érythrolyse.

Il put retrouver les spores et le mycelium très comparables à ceux vus par l'examen direct dans la culture inoculée.

On a donc pu saisir et mettre en évidence le parasite dans le sang.

Faits cliniques. — Les observations que nous avons pu recueillir ne sont pas très nombreuses, mais suffisent à établir la valeur clinique de l'hémolyse immédiate dans les infections généralisées.

PNEUMOCOQUE

OBSERVATION XIII

(Communiquée par M. Le Lorier ; service
de M. le docteur Ribemont-Dessaignes).

*Septicémie pneumococcique chez une puerpérale. —
Placenta prævia. — Hémorrhagie « ante partum ».*

5 décembre 1904. Accouchement provoqué; enfant mort pendant le travail; délivrance artificielle.

8 décembre. Ascension brusque de température la veille, accompagnée de frissons; pouls rapide.

On fait un curettage et des injections intra-utérines au permanganate de potasse et à l'eau oxygénée.

Les jours suivants, la température monte d'emblée à 39°, se maintient entre 39 et 40 avec de faibles oscillations; le pouls est entre 130 et 150.

14 décembre. Prise de sang.

L'examen direct donne peu de renseignements, si ce n'est une polynucléose marquée.

Après érythrolyse, nous retrouvons, au milieu des éléments blancs, où dominent d'une façon anormale les polynucléaires, des diplocoques, quelques-uns arrondis, d'autres effilés, entourés d'une sorte d'aurole et prenant le Gram.

Nous pensons qu'il s'agissait d'une infection pneumococcique.

Nous ne pouvons pas être très affirmatif.

La malade est morte deux jours après et nous n'avons pas été prévenus pour pouvoir examiner les pièces.

Cette hypothèse peut s'appuyer, outre les constatations bactériologiques, sur la courbe de température qui par son élévation et son maintien élevé aux environs de 40° ressemble beaucoup plus à une courbe d'infection pneumococcique.

STREPTOCOQUE

Dans deux cas de pemphigus aigu fébrile grave observés et examinés avec soin dans le service de

notre maître, M. le professeur Gaucher, nous avons pu retrouver le streptocoque dans le sang à l'état de pureté ; nous donnons ces observations en les résumant.

OBSERVATION XIV (personnelle).

Pemphigus aigu fébrile grave.

De L..., âgé de 80 ans, entre, le 4 avril 1905, salle Saint-Louis.

Aucun passé pathologique. Il a été renversé, il y a deux ans, par une automobile et, depuis cette époque, prend des dépuratifs donnés par un pharmacien.

L'affection actuelle remonte à trois semaines. Elle a débuté par des démangeaisons vives, avec courbature, vomissements et phénomènes généraux.

Depuis une huitaine de jours, apparition de bulles sur les quatre membres et le tronc, les muqueuses sont indemnes. Les poussées bulleuses se sont succédées.

Actuellement il existe de nombreuses bulles *intactes et claires*. La température est élevée avec des oscillations au-dessus de 38°.

Nous examinons le liquide de ces bulles claires, où l'on retrouve des globules blancs des cellules épithéliales et quelques streptocoques.

L'examen du sang sur lame ne révèle aucun microbe.

Après l'hémolyse immédiate de 15 centimètres cubes

de sang ponctionné dans une veine du bras et mis dans 200 grammes du liquide érythrolitique, on peut retrouver quelques chaînettes typiques.

Une autre prise de 20 centimètres cubes est faite six jours plus tard, 15 centimètres cubes sontensemencés dans 200 grammes de bouillon, le reste est traité par l'érythrolyse et la centrifugation. On retrouve le streptocoque à l'état de pureté.

L'inoculation à l'oreille d'un lapin donne un érysipèle typique.

Nous avons ensuite retrouvé des streptocoques dans le foie et la rate. Il existait une véritable septicémie streptococcique.

OBSERVATION XV (personnelle).

Pemphigus aigü fébrile grave.

66 ans, entre le 6 janvier, salle Saint-Louis.

Aucun antécédent. Quinze jours avant son entrée, le malade présente du prurit assez violent, puisqu'il gênait sonsommeil. Les jours suivants apparaissent des bulles sur le dos des mains et les jambes. A son entrée il présente des lésions de grattage eczématisées sur les avant-bras, les jambes et le dos. Les muqueuses sont indemnes.

L'examen du liquide des bulles à leur apparition et avant qu'elles paraissent infectées, montre des streptocoques.

L'examen du sang laisse voir des cocci isolés et rares, et des grains arrondis réunis par trois et quatre constituant de courtes chaînettes. L'état général

s'aggrave rapidement et le malade meurt en 10 jours.

Après la mort on constata des végétations polypiformes du cœur gauche en rapport avec une endocardite récente qui vérifiaient ainsi le diagnostic que l'hémolyse immédiate avait permis d'affirmer.

Dans deux cas de grippe infectieuse, nous avons pu retrouver du pneumocoque dans le sang et dans le poumon.

BACILLE D'EBERTH

Le bacille d'Eberth a été retrouvé deux fois sur six cas.

Dans les deux cas positifs les malades étaient en pleine période et présentaient des taches rosées lenticulaires.

La prise de sang était faite dans la veine, 5 à 10 centimètres cubes, le sang projeté dans le liquide hémolytique que l'on agitait ensuite et le mélange réparti dans des tubes à centrifuger.

Dans un cas douteux. chez un typhique dans le service de M. le professeur Dieulafoy, le diagnostic pût être fait par ce procédé.

OBSERVATION XVI

Un malade était entré à l'hôpital avec une fièvre typhoïde très nette. Quelques jours après son entrée il présenta des signes de congestion pulmonaire avec hépatisation à une base, dyspnée, toux. On ne pouvait

savoir s'il s'agissait d'une localisation éberthienne ou d'une pneumonie chez un typhique.

M. Lœper fait une ponction du poumon avec une seringue de 10 centimètres cubes contenant 9 centimètres cubes de solution alcoolique.

Après érythrolyse et centrifugation, il fut seulement possible de reconnaître des bacilles d'Eberth.

Leur nature fut ultérieurement confirmée par les méthodes ordinaires du laboratoire.

Ce procédé inoffensif, lorsqu'il est fait soigneusement peut être utilisé pratiquement.

L'examen des crachats de bon nombre d'affections pulmonaires révèle une flore microbienne abondante par suite d'infections secondaires surajoutées.

Et dans certains cas, il peut être avantageux de savoir la nature et l'infection primitive. C'est alors que la ponction du poumon jointe, à l'hémolyse immédiate donnera des renseignements utiles.

BACILLE DE LA TUBERCULOSE

Le bacille de Koch, nous l'avons vu, a été l'objet de toutes les méthodes d'examen du sang, et la résistance que lui offre son enveloppe cireuse permet de le traiter par des moyens brutaux. Aussi n'est-il pas étonnant que l'hémolyse immédiate soit un bon procédé pour le retrouver. Mais ce qu'elle apporte encore en plus de ces méthodes,

c'est la conservation des microbes qui peuvent lui être associés, et celle des globules blancs, dont la proportion a une importance dans l'évolution de la tuberculose.

Il ne nous a pas été donné d'observer de granulie chez l'homme, où nous aurions pu la déceler plus facilement.

Chez le lapin, nous avons pu, comme M. Bezançon et Griffon, la retrouver passagèrement dans les veines quelques jours après l'inoculation des cultures pures. Ces expériences n'ont rien que de normal et de connu. Chez l'homme, les résultats ne pouvaient être aussi faciles.

Sur 25 tuberculeux pulmonaires chroniques à forme caverneuse, et dont l'état général était grave, avec fièvre et grandes oscillations, jamais nous ne l'avons retrouvée.

Sur 12 cas de tuberculose pulmonaire chronique se terminant par des accidents aigus de bacillose, 4 fois nous avons retrouvé le bacille de Koch dans le sang, et constaté à l'autopsie la granulie terminale.

Nous n'insistons sur ces faits que pour montrer que l'érythrolyse en donnant des résultats comparables à ceux des méthodes antérieures, permet des recherches plus complètes et leur est préférable.

STAPHYLOCOQUE

Chez un enfant de 12 ans, atteint d'ostéomyélite et consécutivement d'abcès du rein, on retrouva dans le sang seulement par l'érythrolyse des grappes de staphylocoques identiques à celles du pus de l'abcès osseux et de l'urine.

B. DANS LES LIQUIDES HÉMORRHAGIQUES

I. RECHERCHE DES MICROBES. — Nos recherches ont été faites dans les hématuries et les hémoptysies.

a) *Hématuries.*

Pour être utile, il faut avoir des hématuries très riches en sang et fraîches, l'infection secondaire de l'urine étant excessivement facile. Aussi, dans les hématuries consécutives aux infections vésicales, l'hémolyse n'est pas inutile, mais elle n'est pas indispensable. C'est surtout dans les hématuries totales, d'origine rénale, qu'elle acquiert une importance.

Il peut être possible de faire un diagnostic de tuberculose rénale, puisque malgré l'abondance du sang celui-ci n'est plus une gêne.

Nous n'avons pu vérifier cette affirmation, mais

les résultats obtenus avec les hémoptysies permettent de le dire. Dans une hématurie au cours d'une fièvre typhoïde grave, nous avons pu saisir le passage du bacille d'Eberth.

OBSERVATION XVI (personnelle).

(Service de M. le docteur Landrieux.)

Hématurie à bacille d'Eberth chez une typhique.

Jeune femme, atteinte de fièvre typhoïde depuis quinze jours. Elle présentait, au moment de l'examen, des taches rosées typiques, une grosse rate, la diarrhée caractéristique avec ballonnement du ventre.

La malade paraît très anémiée, pâle. Les urines qui viennent d'être rendues sont rouge cerise en totalité, ne laissant dans le bocal qu'un sédiment insignifiant. Nous pouvons obtenir aseptiquement à l'aide d'une sonde, des urines sanglantes très rouges. L'examen comparatif est fait par la centrifugation seule et par l'hémolyse artificielle immédiate, suivie de centrifugation.

Les deux résultats sont comparables, mais beaucoup plus faciles et démonstratifs dans le second cas. Nous avons retrouvé au milieu des cellules blanches des bâtonnets isolés ou réunis, à bouts arrondis, à protoplasma homogène, ne prenant pas le Gram. S'agissait-il d'infection coli-bacillaire banale ou de bacille d'Eberth ?

La coloration des cils correspondait à cette hypo-

thèse. Nous avons mis une gouttelette de dépôt entre lame et lamelle. Les bacilles étaient très mobiles, quelques-uns plus gros restaient en place.

En mettant ensuite une goutte du dépôt obtenu par centrifugation simple en contact avec cinquante gouttes d'une culture fraîche de bacille d'Eberth, nous obtenons en cinq minutes une agglutination caractéristique. Il s'agissait donc d'une *hématurie avec bactériurie typhique*.

b) *Hémoptysie*.

Les résultats positifs dans l'hémoptysie sont plus nombreux, parce que leur fréquence est plus grande.

Pour les cas particuliers au début de la tuberculose, l'hémolyse immédiate peut rendre les plus grands services. Nous rapportons seulement quelques-unes de nos observations.

OBSERVATION XVII (personnelle).

(Service de M. le docteur Brault.)

Hémoptysie. Bacille de Koch.

Jeune femme de 26 ans, soignée salle Trousseau, se plaint depuis trois semaines de phénomènes généraux vagues, elle est alitée depuis huit jours.

La malade a perdu un jeune enfant de bacillose.

Il y a une dizaine de jours, elle a remarqué des stries sanglantes dans ses crachats.

Le 15 décembre elle fait une hémoptysie abondante que nous examinons.

Le liquide est rouge vif, spumeux, très filant et adhérent au crachoir.

L'examen direct sur une série de lames est négatif.

L'hémolyse immédiate faite avec les modifications indiquées pour les liquides hémorrhagiques laisse voir nettement des bacilles.

A l'auscultation, on constate une induration du sommet gauche avec expiration soufflante et quelques râles sibilants. L'évolution confirme d'ailleurs ces faits.

OBSERVATION XVIII (personnelle).

Hémoptysie. Bacille de Koch.

B..., n° 30, salle Bazin, hôpital Lariboisière.

Le malade est un jeune homme de 20 ans, sans aucun antécédent.

Il est malade pour la première fois, dit-il, depuis quinze jours.

Début de l'affection par un point douloureux sous-claviculaire droit, accompagné de fièvre, de toux.

La veille de son entrée à l'hôpital il a eu sa première hémoptysie.

Le 4 décembre 1904, nous voyons un crachoir rempli de sang qui paraît presque pur. Par endroit, on voit des caillots.

Nous recueillons du sang que le malade vient de rejeter dans une quinté de toux.

L'examen direct ne donne rien.

L'érythrolyse révèle des bacilles de Koch au milieu de nombreux globules blancs.

A l'auscultation, on entendait quelques sibilances au sommet droit.

OBSERVATION XIX (personnelle).

Hémoptysie. Bacille de Koch et pneumocoque.

Salle Bernutz, n° 7, hôpital Lariboisière, décembre 1904.

Le malade a déjà été soigné une fois pour des lésions bacillaires du sommet et considéré comme guéri. Depuis huit jours, il a été pris de grippe.

Début par un coryza, dysphagie douloureuse, laryngite, avec courbature générale.

Le malade qui a déjà eu des hémoptysies lors de son premier séjour, fait une hémoptysie très sanglante.

L'examen direct du sang sur lame laisse voir quelques pneumocoques au milieu des globules blancs.

L'examen, après érythrolyse, permet de constater, au milieu de polynucléaires abondants, des pneumocoques typiques avec leur auréole et prenant le Gram, les uns disposés en diplocoques, d'autres en courtes chaînettes. Enfin, quelques rares bacilles de Koch.

L'auscultation indiquait une congestion aiguë du sommet droit.

Il est vraisemblable qu'il s'agissait d'une lésion

tuberculeuse ancienne, avec infection pneumococcique aiguë.

A côté de ces diagnostics relativement précoces, où notre examen donnait des résultats qu'aucun procédé ne pouvait rendre, nous avons eu l'occasion de retrouver des bacilles chez d'autres malades, mais des tuberculeux avérés avec grosses lésions et chez lesquels la nature de l'hémoptysie n'était pas douteuse. Nous avons prié M. Lœper de vouloir bien vérifier ces faits dans le service de M. le professeur Dieulafoy et nous relatons quelques observations qu'il nous a communiqué.

OBSERVATION XX

Bronchite tuberculeuse hémoptoïque.

Homme de 33 ans, entré à l'Hôtel-Dieu, salle Saint-Christophe, n° 27, le 10 décembre 1905. Bronchite diffuse avec fièvre élevée quotidienne, un peu irrégulière. Amaigrissement et sueurs abondantes. Localisation plus accentuée des signes pulmonaires au sommet gauche. Hémoptysie considérable le 7 janvier, persistant jusqu'au 12. Bacilles dans le sang retrouvés par l'hémolyse immédiate.

OBSERVATION XXI

Tuberculose pulmonaire hémoptoïque.

N° 48, Saint-Christophe. Infiltration tuberculeuse discrète du sommet droit, sans ramollissement ni cavernes. Pas de bacilles dans les crachats. Etat stationnaire du 12 au 26 novembre. Hémoptysies considérables, répétées, calmées momentanément par l'ipéca, l'opium, l'adrénaline, mais si persistantes que l'anémie s'accroît et le malade meurt après dix-huit jours de crachements de sang presque permanents.

Bacilles dans le sang vomi par l'hémolyse immédiate.
Pas de vérification nécropsique.

OBSERVATION XXII

Tuberculose pulmonaire hémoptoïque.

Salle Cruveilhier, n° 29, Charité.

En septembre, tuberculose pulmonaire cavitaire gauche avec hémoptysies abondantes mortelles durant quatre jours.

Bacilles dans le sang vomi par l'hémolyse immédiate.

Ces quelques observations suffisent à montrer la facilité avec laquelle on peut faire la bactérioscopie du sang rejeté au dehors.

II. RECHERCHE DES CELLULES ANORMALES DANS LES LIQUIDES HÉMORRHAGIQUES. — Nous avons pu examiner plusieurs variétés de liquides et, malgré leur petit nombre, nos observations conservent leur intérêt démonstratif et montrent les avantages cliniques que l'on doit espérer.

OBSERVATION XXIII (personnelle).

Cancer du bassin. Hématurie.

(Service de M. le professeur Guyon).

Malade de 62 ans, malade depuis plusieurs mois.

Les hématuries se répètent et affaiblissent la malade, on croit sentir dans le flanc droit une tumeur bas située et en dedans du rein.

A l'examen direct de l'hématurie on trouve uniquement des globules rouges altérés par l'urine et quelques lymphocytes.

Après l'hémolyse immédiate, on rencontre de grandes cellules plus ou moins régulières, arrondies ou allongées, dont le noyau est volumineux et prend fortement l'hématéine.

Ces cellules rappellent celles qui tapissent les voies d'excrétion.

L'existence de la tumeur fait penser à une tumeur

du bassin. Nous avons eu ultérieurement la confirmation opératoire. (Voir fig. 2.)

OBSERVATION XXIV

(Lœper.)

Hématurie néphrétique.

Malade soigné salle Saint-Christophe, atteint de néphrite aiguë avec pissement de sang abondant. La quantité de sang empêche de retrouver les cylindres même après centrifugation ou de les colorer nettement.

Après la dissolution des globules rouges on voit nettement de nombreux cylindres.

La néphrite fut vérifiée par l'opération, (décapsulation) et quelques semaines après à l'autopsie.

OBSERVATION XXV

(Publiée par Gaultier, *Bulletin soc. anat.*, 1904.)

Pleurésie hémorrhagique cancéreuse.

Malade soignée n° 4, salle Sainte-Jeanne.

Opérée d'un cancer de l'utérus il y a 6 mois. La récidive n'a pas tardé à se faire et actuellement il existe une généralisation pleuro-pulmonaire.

Ponctions pleurales répétées : liquide hémorrhagique. On trouve de place en place, au milieu de gros amas d'hématies, quelques cellules volumineuses.

Après la dissolution des globules rouges, les éléments cellulaires-nucléés sont presque exclusivement des cellules cancéreuses qui ne prennent pas la gomme iodée.

OBSERVATION XXVI

(Communiquée par M. Løper.)

Sarcome cérébral et sarcomatose du liquide cephalo-rachidien.

Homme de 40 ans, entré en janvier 1905, salle Saint-Christophe ; entré le 9 janvier 1905 avec céphalée occipitale datant de trois jours, un peu de somnolence et de torpeur intellectuelle, la température est normale.

Le lendemain crise vertigineuse avec nausées et vomissements suivi d'obnubilation intellectuelle, de respiration et de ralentissement du pouls.

Pas de paralysie des membres, mais paralysie incomplète des deux releveurs de la paupière et du moteur oculaire commun droit.

Les jours suivants crises convulsives répétées, quelques-unes à début unilatéral. A la suite de crises subintrantes, le malade meurt le 12 janvier.

La ponction lombaire donna un liquide clair légèrement teinté de sang. Après centrifugation on trouve des éléments analogues à des lymphocytes, mais de volumes variables, les uns à peine gros comme des hématies à noyau occupant presque tout l'élément, les autres à protoplasma plus considérable de diamètre

intermédiaire aux lymphocytes et aux cellules endothéliales.

Par comparaison M. Lœper essaya l'action du liquide érythrolytique et les éléments anormaux étaient naturellement plus nombreux. A l'autopsie on vérifia un sarcome cérébral d'origine pie-mérienne.

Cette observation, où l'hémolyse immédiate n'était cependant pas utile, montra l'utilité qu'on peut en retirer lorsqu'il s'agit du liquide céphalo-rachidien hémorrhagique, ou même lorsqu'il est devenu accidentellement hémorrhagique à la suite de piqûres des veines.

Résumé des observations.

I. SANG

1° *Cellules normales rares dans le sang.*

Cellules anormales.

Maladies infectieuses et maladies organiques.	<i>Numération et proportion des éléments blancs.</i>
2 mycosis fongoïdes.	<i>éosinophilie.</i>
2 lymphadénies.	<i>leucocytose lymphocytaire.</i>
1 sarcomatose généralisée.	<i>cellules sarcomateuses dans la circulation générale.</i>
1 sarcome de l'épaule.	<i>cellules sarcomateuses dans une veine aux environs de la tumeur.</i>
1 sarcome myéloïde de l'humérus.	<i>cellule myéloïde dans le sang de veine.</i>
1 leucocythémie.	<i>cellule ganglionnaire en karyokinèse.</i>

2^o *Granulations pigmentaires.*

3 mélanodermies phtisiques.	<i>absence de pigment dans le sang.</i>
3 maladies d'Addison avec pigmentation généralisée.	<i>absence de pigment dans le sang, vérification par la biopsie de la nature du pigment cutané.</i>
Inclusion de foie bronzé dans le péritoine d'un lapin.	<i>granulations pigmentaires dans le sang.</i>
Sarcome mélanique.	<i>cellules mélaniques conservées et reconnaissables dans le sang de tumeur.</i>
2 sarcomes mélaniques chez le cheval.	<i>granulations pigmentaires, leucocytes mélanifères et cellules mélaniques.</i>

3^o *Parasites dans le sang.*

1 cas de mycose expérimentale chez le lapin.	<i>spores et mycelium identiques à ceux des cultures et des nodosités du malade.</i>
--	--

4^o *Microbes dans le sang.*

Inoculation intra-veineuse des cultures faites en quantité suffisante.	<i>septicémies toujours retrouvées.</i>
Septicémie pneumococcique chez une puerpérale.	<i>pneumocoque dans le sang.</i>
2 pemphigus aigus fébriles graves.	<i>streptocoques dans le sang, dans les bulles.</i> <i>Vérification à l'autopsie de la streptococcie.</i>
2 grippest infectieuses.	<i>pneumocoque dans le sang.</i>
Fièvre typhoïde.	<i>bacille d'Eberth constaté dans le sang.</i>
1 congestion pulmonaire chez un typhique.	<i>bacille d'Eberth dans le sang de la ponction pulmonaire.</i>
Tuberculoses aiguës terminales sur 12 cas.	<i>on retrouve le bacille de Koch 4 fois dans le sang.</i>
1 abcès du rein consécutif à une ostéomyélite.	<i>staphylocoque dans le sang analogue à celui retrouvé dans les urines.</i>

II. LIQUIDES HÉMORRHAGIQUES

1° Recherche des microbes.

Hématuries vésicales, hématurie chez une typhique à la période d'état.	<i>bacille d'Eberth, vérification par coloration des cils, et réaction agglutinante à 1/50.</i>
1 hémoptysie avec phénomène de grippe.	<i>bacille de Koch et pneumocoque.</i>
6 hémoptysies.	<i>bacille de Koch.</i>

2° Recherche des cellules anormales.

Hématurie, cancer du bassinet.	<i>cellules épithéliales dans l'urine.</i>
Hématurie néphrétique.	<i>cylindres rénaux impossibles à étudier autrement.</i>
Pleurésie hémorrhagique chez une cancéreuse.	<i>concentration qui facilite l'examen des cellules cancéreuses.</i>
Sarcome cérébral avec sarcomatose du liquide céphalo-rachidien.	<i>concentration des éléments qui facilite l'examen des cellules sarcomateuses.</i>

Les avantages que nous avons indiqués au début de ce travail nous paraissent justifiés.

Nous n'avons pu étudier tous les cas auxquels l'érythrocytolyse peut s'appliquer. Mais la méthode est facile et nous sommes assuré des services qu'elle peut rendre, puisque déjà nous avons trouvé des échos à nos premières publications.

MM. Nathan-Larrier et Bergeron appliquent l'hydro-hémolyse que nous avions déjà signalée en mai 1905.

En Allemagne, Nöggerath et Stähelin (1) disent avoir retrouvé la spirochète de la syphilis par l'eau acétifiée.

Mais ces auteurs n'ont encore fait porter leurs travaux que sur la bactérioscopie, la recherche complète des parasites est à faire. Quant à la cytoscopie du sang, nous n'avons pu que la commencer, la néocytémie est maintenant établie, il reste à en fixer la valeur comme élément de diagnostic spécial et l'intérêt au point de vue de la physiologie pathologique générale.

(1) Nöggerath et Stähelin (*Munch. med. Woch.*, n° 31, 1905.)

CONCLUSIONS

I. — L'hémolyse immédiate, comprenant la destruction *totale et élective* des globules rouges avec conservation de tous les autres éléments, est un phénomène que l'on peut obtenir à l'aide d'agents chimiques spéciaux.

II. — Les procédés que nous indiquons, employés avec notre technique, permettent d'éviter la *coagulation* et donnent, grâce à la centrifugation, une concentration très grande de tous les éléments autres que les globules rouges.

III. — Les réactions chromatiques sont conservées.

IV. — C'est une méthode facile, pratique, qui bénéficie de tous les avantages de l'examen direct.

V. — Elle s'applique de préférence à l'examen du sang, et, dans certaines conditions, à celui des liquides hémorrhagiques :

1° Pour l'examen quantitatif et qualitatif des globules blancs ;

2° Pour la recherche des éléments spécifiques microbiens et parasitaires ;

3° Pour la recherche des éléments anormaux : cellules sarcomateuses, cellules et granulations pigmentaires.

Indépendamment de l'intérêt diagnostic que nous avons mis en lumière, l'hémolyse immédiate présente un intérêt pronostic facile à comprendre dans l'évolution des septicémies et des généralisations des tumeurs sarcomateuses, les épithéliomes nous ayant presque toujours donné des résultats négatifs.

Vu : LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE,

ERN. GAUCHER.

Vu : LE DOYEN,

DEBOVE.

Vu et permis d'imprimer,

LE VICE-RECTEUR DE L'ACADÉMIE DE PARIS,

L. LIARD.

BIBLIOGRAPHIE

- CH. ACHARD et LÆPER. — Résistance cellulaire aux solutions isotoniques et diverses substances (C. R. Soc. biologie, mars 1904).
- BARD (de Genève). — Du diagnostic par l'hémolyse de la nature cancéreuse des pleurésies et péritonites hémorrhagiques (C. R. Soc. biologie, 16 fév. 1901).
- K. BERGERON. — La présence du bacille de Koch dans le sang (*Thèse*, Paris, 1903-1904).
- BEZANÇON, GRIFFON, PHILIBERT. — Causes d'erreur dans le diagnostic du bacille tuberculeux recherché dans les caillots par l'examen microscopique (C. R. Soc. biologie, 1903, p. 203).
- BORDET. — Annales de l'Institut Pasteur (1898, p. 688).
— Annales de l'Institut Pasteur (1900).
- BOUSQUET. — Recherches cryoscopiques sur le sérum sanguin. — La plasmolyse et l'isotonie chez les êtres vivants (Paris, 1899).
- M. BRETON. — De l'hémolysine produite par le streptocoque dans l'organisme infecté (Soc. biologie, 1903, p. 886).
- BUCHNER. — Archiv für hygiène (t. XVII).

- CALUGAREANU. — Influence de la durée du contact et de la température sur la résistance des globules rouges (Soc. biologie, 22 mars 1901).
- CAMUS et GLEY. — Recherches sur l'action globulicide du sérum d'anguille.
- CAMUS et PAGNIEZ. — Action globulicide de certaines urines et de quelques liquides de l'organisme (C. R. Soc. biologie, 20 octobre 1900).
- Influence de l'acidité et de l'alcalinité sur le pouvoir globulicide des urines (C. R. Soc. biologie, 14 nov. 1900).
- CAVAZZANI. — Il sublimato e la resistenza del sangue (*Riforma medica*, nov. 1891).
- CHANEL. — Recherche sur la résistance des hématies (*Thèse*, Lyon).
- COURMONT. — Sur la présence des bacilles d'Eberth dans le sang des typhiques (*Journal de physiologie et de pathologie générale*, 1902, p. 15).
- CLERC et LÉPER. — La formule leucocytaire des intoxications par le sérum d'anguille (Soc. biologie, 1902).
- COURMONT. — *Bulletin de la Société médicale des hôpitaux*, 21 déc. 1901.
- CROUZON et VILLARET. — Les bacilles pseudo-tuberculeux (*Revue de la tuberculose*, 1903, p. 158).
- EYKMAN. — Über die Permeabilität der Blutkörperchen (*Arch. für die ges. physiolog.*, 1897).
- FRON. — *Thèse*, Paris, 1905.
- FULLONI. — Sulla resistenza del sangue (*Il morgagni*, Milano, 1897).
- GARGANO et G. NESTI. — Sudi alcemi recenti metodi de riceve del bacillo di Koch nei liquidi coa-

gubili (*Rivista cortica di clinic. medica*, 1903, p. 188).

GRYNS. — Pflugers, *Archiv.*, 1896, Bd. 63.

HAMBURGER. — Ueber den einfluss chemischer verbindungen auf blutkoerperchen in zusammenhang mit ihren moleculargewichen (*Archiv. fur physiologie* de Du Bois-Reymond, 1897).

— Ueber die dirch salz und rohrzucker. Loesungen bewirkten Versenderungen der Blutkoerperchen (*Idid.*, 1887).

— Sur une propriété nouvelle des hématies (*Revue générale des Sciences*, 1893, p. 33).

— Ueber den einfluss von saeure und alkali auf die permeabilitaet der lebendigen blut Kaerperchen nebst einer bemerkung uber die lebensfähigkeit des defibrinirtes Blut (*Archiv. f. physiologie*, 1893, p. 153).

— Die gefrierpunkterniedrigung des lackfarbenen blutes und das volum der butkoerperchenschtlern (*Archiv. fur Anat. und phys.*, 1897).

— Ueber den einfluss von salzlvesungen auf das volum thierische zellen (*Archiv. fur Anatomie und physiologie*, 1899).

— Untersuchung des harnsmittels Kombinirter anwendung von gefrierpunkt und blutkoerperchen methode (*Centralb. f. innere Medicin*, n° 12, 1900).

— Sur la résistance des globules rouges. Analyse des phénomènes et propositions pour mettre de l'unité dans les évaluations (*Journal de physiol. et pathol. générales*, nov. 1900, n° 5).

- La résistance des globules rouges (Rapport Congrès 1900, section d'anatomie path.).
- HEDIN. — Ueber die permeabilitaet der blutkörperchen (*Pflügers Archiv*, 1897, Bd 68).
- Conditions de destruction des globules rouges par certains agents chimiques (*Société Biologie*, 1900, p. 771).
- Action globulicide des glycosides et conditions du milieu qui la favorisent ou l'empêchent (*Société Biologie*, 1900, p. 770).
- JOUSSET. — Des septicémies tuberculeuses (*Bulletin Société Médicale des Hôpitaux de Paris*, 1903, p. 519).
- Nouvelle méthode de recherche du bacille tuberculeux (*Bulletin Soc. Médic. des Hôpitaux de Paris*, 1903, p. 14).
- L'Uroscopie (*Semaine Médicale*, 1903, p. 22).
- KOWALESKI. — Ueber die Wirkung der salze auf die rothen blutkörperchen (*Centralblatt f. d. Wissenschaften*, 1886).
- E. KORMÖCZI et X. JASSINGER. — Ueber die Farvenbarkert der Joussetchen Inoscopie (*Deutsch. Medicin. Wochens.*, 1904, p. 342).
- LEMIERRE. — L'Ensemencement du sang pendant la vie (*Thèse*, Paris, 1905).
- LÉPINE. — Sur la résistance globulaire (*Revue mensuelle*, 1880).
- LESIEUR. — Recherche directe des microbes dans le sang, du bacille de Koch en particulier, par le procédé de la sangsue.
- VON LIMBECK. — Klinische beobachtung ueber die

- resistenz des rothen blutkörperchen (*Prager Medic. Wochenschrift*, 1908, nos 28, 29).
- MALASSEZ. — Des premières recherches sur la résistance des globules rouges (*Société de Biologie*, janv. 1895).
- Sur l'altération des globules rouges (*Soc. Biol.*, 1897).
- MARAGLIANO et CASTELLINO. — Nécrobiose lente des globules rouges à l'état normal et pathologique (*Archiv. di Clin. med. Milano*, 1903).
- MOSSO. — Résistance des globules rouges (*Archiv. ital. de Biologie*, 1887, p. 257).
- MASOIN. — Contribution à l'étude des substances méthémoglobinisantes (*Archives de pharmacodynamie*, 1898).
- NEPVEU. — *Société de Biologie*, 1884.
- NOLF. — Globulolyse et pression osmotique (*Annales de l'Institut Pasteur*, 1900, p. 492).
- Le mécanisme de la globulolyse.
- PAGNIEZ. — *Annales de l'Institut Pasteur*, 1900, p. 65.
- POTTET. — *Thèse*, Lyon, 1902.
- RAOULT. — Congrès Association française pour l'avancement des sciences. Grenoble, 1889.
- REHNS et ROUX. — Contribution à l'étude des glucosides hémolysants. Essai de pharmacodynamie cellulaire (*Soc. Biologie*, mars 1900).
- Action comparative et synergie de quelques glucosides hémolysants (*Ibid.*, mars 1902).
- RIBIERRE. — L'Hémolyse et la mesure de la résistance globulaire ; application à l'étude de la résistance globulaire dans l'ictère (*Thèse*, Paris, 1902).

- SABRAZÈS et FAUQUET. — Action de l'urine sur les globules rouges (*Soc. Biolog.*, 1901).
- STADELMANN. — Das toluylendiamin und seine Wirkung auf den Thierkörper. Ein Beitrag zur Lehre vom Icterus (*Archiv. für experimentale patholog. und pharmakologie*, t. XIV, 1881).
- TUFFIER et MILIAN. — Action de l'urine sur les globules rouges (*Société Biologie*, 1901).
- URCELAY. — De la résistance des globules rouges (*Thèse*, Paris, 1895).
- Vaquez. — Recherches sur l'hémolyse *in vitro* (*Société Biologie*, 1897).
- Résistance des globules rouges (Congrès de Paris, 1900).
- VART. — Action de la toluylène diamine sur les globules rouges (*Thèse*, Paris, 1899).
- VEYRASSAT. — Des variations de résistance des hématies et de l'hémoglobine dans divers états pathologiques (Lyon, 1900).

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
INTRODUCTION.....	7
DIVISION.....	11
CHAPITRE I. — Les inconvénients de la présence en nombre considérable des globules rouges dans les examens de sang et de liquide hémorrhagique.....	13
CHAPITRE II. — Les méthodes qui permettent de compléter l'examen du sang.....	23
CHAPITRE III. — L'hémolyse immédiate en Erythrocytolyse.....	32
CHAPITRE IV. — Technique.....	42
CHAPITRE V. — Application de la méthode et ses résultats.....	56
RÉSUMÉ DES OBSERVATIONS.....	98
CONCLUSION.....	103
BIBLIOGRAPHIE.....	105

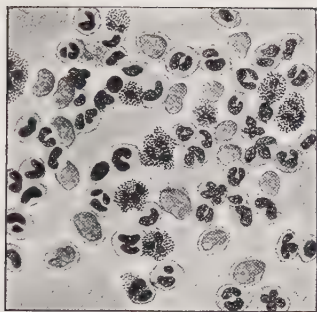


Fig. 1. — Culot de centrifugation d'un sang riche en éosinophile : mycosis fongoïde.

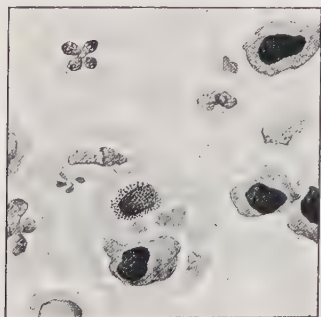


Fig. 2. — Leucocytes désintégrés et cellules cancéreuses intactes dans l'urine hématurique d'un cancer du rein, d'origine pyélique.

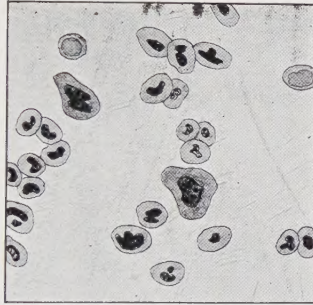


Fig. 3. — Deux cellules sarcomateuse, dont l'une à deux noyaux, au milieu des leucocytes du sang d'un malade atteint de sarcomatose généralisée. On remarquera les réactions et le volume de ces cellules, plus typiques encore dans la figure 4.



Fig. 4. — Différents types de cellules sarcomateuses trouvées dans le sang du malade atteint de sarcomatose. Au-dessous, les macrophages à protoplasma clair, les mononucléaires à noyau plus ramassé, les mononucléaires basophiles à noyau très clair.

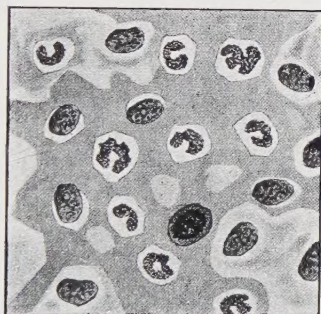


Fig. 5. — Mononucléaire lymphatique en karyokinèse dans
le sang d'un lymphadénique.

